

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LE CARBONE DES PEPTONES, SOURCE D'ÉNERGIE POUR LE BACILLE DIPHTÉRIQUE

par G. ABT.

(Travail du laboratoire du D^r L. MARTIN.)

Le bacille diphtérique, cultivé dans le bouillon Martin, produit des quantités considérables d'acide carbonique. Je me propose de montrer que cet acide carbonique provient pour la plus grande partie des peptones du milieu, dont le microbe utilise plus de carbone comme source d'énergie qu'il n'en prend pour édifier sa propre substance.

Acide carbonique produit.

J'ai calculé l'acide carbonique produit en additionnant les quantités qui se sont dégagées dans l'atmosphère du vase de culture et celles que l'on a dosées dans le liquide à la fin de la période d'activité, à l'état de CO^2 libre ou de bicarbonate, sous déduction de l'acide libre ou combiné qui pouvait exister dans le milieu avant l'ensemencement. Les techniques employées pour recueillir et peser CO^2 dégagé, et pour doser CO^2 dans le

milieu de culture, ont été décrites dans une autre publication (1). Toutes les cultures étaient faites en bouillon Martin, dans des ballons Fernbach, avec le bacille de Park-Williams n° 8. Le volume du liquide, après la stérilisation, était voisin de 1.100 cent. cubes.

Deux cultures types ont donné les chiffres ci-dessous :

	I	II
Durée de l'expérience en jours.	33	37
pH à l'origine.	8,30	6,30
pH à la fin	8,05	7,55
CO ² dégagé, en grammes	1,968	2,741
CO ² dosé dans le liquide, en grammes.	1,959	1,408
CO ² total en grammes	3,927	4,149
Poids de culture, en grammes.	0,902	0,790

Je prendrai comme base des calculs ultérieurs la moyenne des poids d'acide carbonique produits dans ces deux cultures, soit 4 gr. 038, ou plutôt en chiffres ronds 4 grammes. Cette valeur est à mettre en regard du poids de la culture, séparée par centrifugation et séchée. Ce poids serait pour la moyenne de ces deux expériences 0 gr. 846; dans une autre culture, on a recueilli 0 gr. 831 au trentième jour; dans une quatrième, 1 gr. 027 au dix-neuvième jour. Ce dernier chiffre est plus élevé que les précédents; la différence correspond à la diminution de poids des corps microbiens par autolyse, fait observé par tous les expérimentateurs. Bien que cette diminution, du chiffre de 1 gr. 027 au chiffre moyen de 0 gr. 850, représente déjà 17 p. 100, il est probable que le poids maximum est atteint entre le dixième et le quinzième jour et a déjà décliné au dix-neuvième jour. On peut admettre que le poids maximum moyen de ces récoltes est de 1 gr. 100 par ballon, chiffre que j'adopterai.

J'ai suivi, dans les 4 bouillons numérotés I, IV, II et VI, la marche de la production de CO².

Les quantités de CO² dosées dans les liquides de culture et recueillies dans l'atmosphère des ballons ont été données dans les tableaux I, III et II du mémoire précité, dans lequel les mêmes analyses ont été utilisées. Mais pour déduire de ces chiffres la production totale de CO², il a fallu essayer de

(1) G. ABT et G. LOISEAU, Sur les facteurs des variations de pH dans les cultures de bacille diphtérique. Ces *Annales*, 39, 1925, p. 114.

tenir compte des prélèvements opérés sur la culture pour effectuer les analyses.

Des expériences témoins, dans lesquelles on ensemait le même bouillon et se contentait, d'une part, de refaire l'analyse du liquide au bout d'un mois, d'autre part de recueillir de jour en jour CO^2 dégagé, ont montré que : 1° le poids de culture à la fin n'est pas sensiblement influencé par les prélèvements ; 2° les quantités de CO^2 dégagées dans le même temps diffèrent très peu, que l'on fasse ou non des prélèvements. Il suit de là que l'on peut, sans grosse inexactitude, prendre pour la fraction de CO^2 dégagée les chiffres fournis par les pesées, sans y introduire de corrections destinées à compenser les prélèvements.

Pour CO^2 retenu dans le milieu, on ne saurait au contraire adopter les chiffres des tableaux I et III, auxquels j'ai fait allusion ; ils représentent en effet la concentration par litre. Or, le volume du liquide de culture diminue notablement par suite des prélèvements et l'on voit, par les quantités de CO^2 dégagé, que l'activité du métabolisme microbien n'est cependant pas fortement affectée : si l'on ramenait au poids par litre l'acide carbonique dosé sur une fraction, au moment où le volume total n'est plus que de 800 ou 700 cent. cubes, on commettrait une erreur considérable. J'ai donc pris soin de calculer pour chaque analyse, d'après les prélèvements antérieurs, les volumes réels auxquels elles se rapportaient. La quantité d'acide carbonique, dissous ou combiné, qui a été produite au dixième jour, est donc donnée par celle que l'on dose dans le volume de liquide existant au dixième jour, augmentée de l'acide carbonique réellement contenu dans les prélèvements antérieurs, et effectivement soustrait à la culture.

Il reste encore une correction à faire, lorsque l'on additionne CO^2 dégagé et CO^2 resté dans le milieu. En effet, on recueillait le premier environ deux heures après avoir opéré un prélèvement ; le courant d'air, diminuant la tension de CO^2 dans l'atmosphère du ballon, avait entraîné un dégagement du gaz dissous dans le liquide. Or ce gaz était déjà compté comme existant dans le milieu, puisque le chiffre obtenu dans l'analyse de la fraction prélevée était rapporté au volume total au moment du prélèvement. En faisant un second prélèvement après le passage du courant d'air, on se rend compte que le gaz perdu par ce liquide pendant ce temps forme à peu près le dixième du gaz entraîné dans les tubes à CO^2 . J'ai donc déduit 1/10 des chiffres de CO^2 dégagé, chaque fois qu'un prélèvement avait été fait avant le passage du courant d'air.

Les calculs ainsi établis font apparaître des chiffres totaux de CO^2 inférieurs, du fait de la fraction dissoute, de 15 p. 100 environ à ceux des cultures sans prélèvements. Ceux-ci donnent seuls une idée exacte de la production totale de gaz carbonique. Mais l'allure du phénomène est presque indépendante des valeurs absolues et peut être suivie sur les cultures avec prélèvements.

Le tableau I donne les quantités de CO^2 produites depuis l'origine jusqu'aux jours des divers prélèvements, puis les quantités moyennes produites par jour, dans l'intervalle de deux prélèvements successifs.

La production de CO^2 par le bacille diphtérique est représentée par une courbe parfaitement régulière. Cette courbe a

été tracée, dans la figure 4 (p. 399), pour les 4 bouillons étudiés; mais on a porté en ordonnées, au lieu des valeurs du CO_2 , celles du C correspondantes, pour des raisons qui seront données plus loin.

TABLEAU I. — Production de CO_2 en milligrammes par culture.

JOURS	I (pH = 6,10)			IV (pH = 6,60)			II (pH = 8,0)			VI (pH = 8,25)		
	pH	CO_2 total	CO_2 par jour	pH	CO_2 total	CO_2 par jour	pH	CO_2 total	CO_2 par jour	pH	CO_2 total	CO_2 par jour
2	—	—	—	6,65	357	178,5	7,55	729	364,5	7,50	691	345,5
4	6,7	726	181,5	6,80	656	164,5	7,70	1.519	379,7	7,50	1.542	425,8
6	7,05	1.198	472	7,35	1.458	383,9	7,85	2.080	240,5	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7,60	2.620	359,3
8	—	—	—	7,35	2.283	412,7	7,90	2.312	115,8	—	—	—
10	7,15	1.804	151,6	—	—	—	—	—	—	7,85	3.608	129,4
11	—	—	—	7,45	3.045	284,1	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	8,30	2.634	80,5	—	—	—
14	7,50	2.578	193,5	—	—	—	—	—	—	8,25	3.258	62,7
16	—	—	—	—	—	—	8,30	2.846	53,1	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8,40	3.370	22,3
21	—	—	—	—	—	—	8,50	3.233	71,4	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8,45	3.673	27,5
32	—	—	—	—	—	—	8,60	3.552	1,7?	—	—	—
33	7,75	3.149	31?	—	—	—	—	—	—	—	—	—

On voit que la culture traverse d'abord une période de grande activité, puis que l'intensité du métabolisme microbien baisse vivement et enfin s'éteint peu à peu. La production de l'acide carbonique atteint 81,8 p. 100 du total dès le quatorzième jour pour le bouillon I, 81 p. 100 dès le douzième jour pour le bouillon II, 81,8 p. 100 dès le dixième jour pour le bouillon VI.

Au vingt-et-unième jour, la culture II est presque arrivée au point d'arrêt; elle ne produit plus entre le vingt et unième et le trente-deuxième jour que 0,6 p. 100 du CO_2 total. Dans le bouillon VI, on n'avait encore au dix-neuvième jour que 91,8 p. 100. L'évolution de la culture est un peu plus rapide dans un ballon que dans l'autre; mais on peut en général la diviser en trois périodes d'activité décroissante : premier au douzième jour environ; douzième au vingtième jour; au delà du vingtième jour.

En ce qui concerne les tout premiers jours, l'influence de la réaction du milieu est décisive. Dans les bouillons I et IV, ajustés à $\text{pH} = 6,10$ et $\text{pH} = 6,60$, c'est-à-dire au-dessous de $\text{pH} = 7,0$, la production moyenne par jour n'est que de 181, 178, 164 milligrammes, pendant les quatre premiers jours. La même période pour les bouillons II et VI, ajustés à $\text{pH} = 8,0$ et $\text{pH} = 8,25$, donne des quantités de 364 et 345 milligrammes les deux premiers jours, 395 et 425 milligrammes les deux jours suivants. Mais dès que le pH des bouillons, qui étaient acides à l'origine, a franchi la neutralité, la production de CO_2 croît brusquement et atteint 472 milligrammes par jour dans le bouillon I, 386 dans le bouillon IV. Au contraire, elle diminue déjà vers la même époque dans les bouillons alcalins. Il est remarquable que les différences observées au début entre les bouillons acides et alcalins soient à peu près compensées dans la suite, comme si la production totale de CO_2 était limitée, soit par les possibilités d'accroissement de la masse microbienne, soit par les disponibilités en substances utilisables.

La production moyenne de CO_2 par jour apparaît comme la mesure la plus précise de l'activité bactérienne et comme le critérium le plus sûr de l'adaptation de toutes les conditions aux besoins du microbe. Elle indique très nettement qu'une réaction faiblement acide est défavorable pour le développement du bacille diphtérique, bien qu'on obtienne des cultures très riches.

Origines de l'acide carbonique.

I. SUCRES. — L'acide carbonique ne provient pas de l'action du bacille diphtérique sur un sucre. Il est admis que le bouil-

lon Martin n'en contient pas, depuis l'époque où L. Martin l'a préconisé pour la préparation de la toxine diphtérique : le sucre musculaire est détruit dans la macération de viande, pendant le séjour de vingt heures qu'elle fait à l'étuve à 37°. Toutefois, l'absence du sucre n'avait pas été confirmée par un dosage précis; il était indiqué de combler cette lacune.

TECHNIQUE. — Le bouillon Martin renferme des produits réducteurs autres que des sucres, dont il est très difficile de le débarrasser complètement par défécation. De plus, les quantités de sucre ne pourraient vraisemblablement pas dépasser quelques décigrammes par litre, tandis que la concentration des protéides atteint au moins 25 grammes; ce qui entraîne la formation de précipités volumineux avec les réactifs employés pour la défécation, et la nécessité de concentrer les filtrats pour le dosage. Après quelques essais, il est devenu manifeste que certaines méthodes adaptées au dosage de petites quantités de sucre, comme celle de Bang, celle de Benedict et Osterberg, n'étaient pas applicables ou donnaient des résultats paradoxaux : il est impossible de distinguer, avec ces méthodes, entre les réductions dues aux sucres et celles qui ont pour agents d'autres produits réducteurs. Les seuls procédés qui conviennent ici sont ceux qui comportent la séparation d'un précipité d'oxydure de cuivre. On peut admettre que le corps réducteur est un sucre quand ce précipité a le même aspect que celui que l'on obtient avec une solution de glucose; il y a doute au contraire lorsque le précipité est jaune ou orangé, floconneux, ou que la liqueur cuprotartrique en excès prend une coloration vert sale. Dans ces derniers cas, il faut recommencer l'opération en essayant d'obtenir une défécation plus parfaite.

Je n'ai pas obtenu de résultats satisfaisants avec les procédés de défécation suivants : 1° tungstate de soude à 25 p. 100 et SO_4H^2 (Follin et Wu); 2° acide phosphotungstique à 25 p. 100 et SO_4H^2 , puis eau de baryte après filtration; 3° réactif de Patein; 4° emploi successif de l'acétate de plomb et l'hydrogène sulfuré, puis de l'acétate mercurique à 50 p. 100 et l'acide phosphotungstique à 50 p. 100, puis de la baryte (Neuberg et Ishida (1)). Cette dernière méthode fait perdre dans les précipités 80 p. 100 au moins du volume de liquide mis en jeu; elle n'est pas plus efficace que l'emploi plus simple du sulfate mercurique, préparé d'après la formule de G. Bertrand. C'est au sulfate mercurique que je me suis donc arrêté, en ayant soin de laisser quelques heures en contact avec le réactif, avant de filtrer une première fois en milieu acide, puis de prendre la même précaution après avoir neutralisé, avant la seconde filtration. On s'aperçoit en effet que certaines substances ou certains complexes ne précipitent qu'en milieu faiblement acide pour les uns, neutres ou faiblement alcalins pour d'autres; et que certaines précipitations sont lentes à se produire. Enfin, pour éliminer l'excès de mercure dans le filtrat, j'ai traité successivement par la poudre de zinc, puis la tournure de cuivre fraîchement décapée, en milieu faiblement acétique. Dans certains cas, il a été nécessaire, après avoir opéré sur 100 cent. cubes de liquide, brut ou concentré au préalable, de ramener le volume à 8 ou 10 cent. cubes par distillation dans le vide, puis de répéter la défécation au sulfate mercurique, une et même deux fois. Ces complications se présentent surtout, il est vrai,

(1) *Biochem. Zeitschr.*, 37, 1911, p. 142.

lorsqu'on a soumis le bouillon ou les filtrats des cultures à un chauffage de quelques heures en présence de 3 à 4 p. 100 d'acide sulfurique. Il apparaît alors un pouvoir réducteur, correspondant à 300 ou 400 milligrammes de glucose par litre, que l'on parvient à supprimer par des défécations répétées. Comme ce pouvoir réducteur ne diminue pas notablement pendant la culture, je crois pouvoir le négliger, bien que le corps auquel il appartient n'ait pas été identifié.

Pour le dosage, j'ai suivi la méthode de G. Bertrand, adaptée aux quantités inférieures à 10 milligrammes par les modifications de L. Ambard (1) et Ch.-O. Guillaumin (2). La technique qui convenait pour le matériel dont je disposais comportait l'emploi de 7 c.c. 5 de solution de sulfate de cuivre et de solution alcaline, pour 15 cent. cubes de liqueur. Le bain-marie était porté à l'ébullition en une minute ou une minute et demie au plus, et le chauffage dans le tube à centrifuger prolongé sept minutes à l'ébullition. Centrifugation après refroidissement rapide; lavage, dissolution et titrage dans le tube même; solution de $\text{MnO} \cdot \text{K}$ n/30. Les petits détails de technique ont une influence sur la réduction; je crois indispensable que chaque opérateur dresse une petite table, à l'aide de solutions pures de glucose ou de saccharose hydrolysé; c'est ce que j'ai fait pour des quantités de 1 à 10 milligrammes, de milligramme en milligramme.

J'ai obtenu avec cette technique, pour le bouillon nonensemencé, des réductions correspondant à 16 milligrammes, 14 milligrammes, 21 milligrammes, 3 milligrammes de glucose par litre; et pour des cultures de deux jours, quatre jours, six jours, ensemencées dans un même bouillon, des réductions correspondant respectivement à 14 milligrammes, 6 milligrammes, 8 milligrammes par litre. Il n'est pas certain du reste que le produit réducteur soit un sucre; les quantités sont trop faibles pour tenter une vérification. Par contre, en faisant macérer à la glacière, pendant vingt-quatre heures, 500 grammes de viande de veau dans un litre d'eau, j'ai obtenu un liquide qui renfermait par litre 2 gr. 500 de sucre, exprimé en glucose.

Il n'y a donc pas à tenir compte du sucre pour la production de CO_2 dans le bouillon Martin.

II. ACIDES ORGANIQUES. — J'ai montré avec G. Loiseau, dans un autre travail (3), auquel je renvoie pour les techniques suivies et les tableaux à consulter (tableaux IV et V): 1° que le bouillon Martin nonensemencé contient des acides organiques; 2° que ces acides augmentent jusqu'au quatrième jour environ

(1) L. AMBARD. *Bull. Soc. Chimie biologique*, 1-2, 1920, p. 203.

(2) Ch.-O. GUILLAUMIN. *Journ. de Pharmacie et de Chimie*, 7^e série, 22, 1^{er} et 16 novembre 1920.

(3) *Loc. cit.*

de culture et diminuent ensuite; 3° que leurs sels alcalins sont transformés en bicarbonates, dont les phosphates acides, ou les acides organiques nouvellement formés, dégagent CO^2 .

Dans les bouillons non ensemencés on trouve de l'acide formique, de l'acide acétique, de l'acide butyrique et des acides fixes, dont l'acide lactique forme 80 p. 100. Au moment où les cultures que j'ai étudiées ont été arrêtées, c'est-à-dire au dixième ou au vingtième jour, tous ces acides, sauf l'acide formique, avaient disparu en grande partie. On peut faire l'hypothèse que les quantités qui existaient au début ont été entièrement oxydées en CO^2 et H^2O . Le fait est certain pour l'acide acétique, dont il ne reste quelquefois que des traces, et jamais plus de quelques milligrammes. Pour les acides butyrique et lactique, je montrerai plus loin que l'hypothèse est également justifiée. La combustion des acides organiques apportés par le milieu de culture donne naissance aux quantités moyennes de CO^2 suivantes, en milligrammes par litre :

	III_2 (1)	I_2	II_2	MOYENNE	CO^2
Acide acétique	307	396	370	358	522
Acide butyrique.	386	423	346	442	884
Acide lactique.	76	120	431	409	179
					<hr/> 1.565

Nos ballons de culture contenant toujours au moins 1.100 centimètres cubes, on calcule que sur les 4 grammes de CO^2 produits, 1 gr. 721 proviendraient des acides organiques (2). Le reste, 2 gr. 279 par culture, ne peut avoir pour source que les protides.

III. PROTIDES. — Après les réactions d'hydrolyse qui amènent les protides au stade d'acides aminés, ces acides aminés perdent leur groupe NH^2 , puis subissent une dislocation, après

(1) Les bouillons dans lesquels ont été dosés les acides organiques ne sont pas les mêmes que ceux qui ont servi aux dosages de CO^2 et NH^2 ; ils sont désignés par un indice (III_2). Le bouillon III_2 est le bouillon pris comme type, le dosage de l'acide formique ayant peut-être comporté des erreurs dans une partie des analyses pour les bouillons I_2 et II_2 .

(2) Les acides organiques du bouillon Martin, formés pour la plus grande partie pendant la « maturation » de la macération de viande à l'étuve, fournissent 43 p. 100 du CO^2 total. Cela montre combien cette fermentation préalable de la viande est importante.

laquelle ils apparaissent dans le milieu sous la forme d'acides gras, acide formique, acétique, butyrique, valériannique et lactique. Les quantités de ces divers acides, dont la production était révélée par les analyses successives de la même culture, ont été, en milligrammes par litre :

	III ₂	I ₂	II ₂
Acide formique	182	132	44
Acide acétique.	259	0	0
Acide butyrique.	247	232	779
Acide valériannique	59	32	23
Acide lactique.	120	46	52

Un fait saute aux yeux en parcourant ce tableau : c'est que les quantités produites réellement dépassent de beaucoup, pour certains acides du moins, celles que permettent de calculer les différences constatées par l'analyse. Comment s'expliquer autrement qu'il n'y ait pas de production apparente d'acide acétique dans les bouillons I₂ et II₂, et que la quantité d'acide butyrique produite dans le bouillon II₂ soit le triple de celle qui apparaît dans les bouillons III₂ et I₂? Essayons d'estimer approximativement cette production supplémentaire d'acides organiques, en supposant pour simplifier qu'elle ne touche que les plus importants, les acides acétique et butyrique. Dans le tableau II, j'ai calculé pour le bouillon III₂ et par litre, la

TABLEAU II. — Production et destruction d'acides organiques en milligrammes par litre.

PÉRIODES en jours	ACIDES PRODUITS		ACIDES DÉTRUITS			CO ² produit dans une culture moyenne
	Acide acétique	Acide butyrique	Acide acétique	Acide butyrique	CO ² correspondant	
0-2 ^e . .	129,5	123,5	0	0	0	355
2 ^e -4 ^e . . .	0	0	61,4	34,9	159,4	410,5
4 ^e -6 ^e . . .	0	0	118,2	98,5	369,6	320
6 ^e -10 ^e . .	0	0	51,7	26,8	129,1	115

production et la destruction quotidienne de ces deux acides, pour des périodes de deux jours au début, puis de quatre jours.

Dans l'avant-dernière colonne figurent les valeurs moyennes de CO_2 correspondant aux acides apparemment détruits; et dans la dernière, les quantités de CO_2 obtenues en prenant les moyennes, pour les mêmes périodes et par jour, des cultures II et VI du tableau I.

En comparant les chiffres de CO_2 dans les deux dernières colonnes, on voit qu'il y a presque coïncidence au delà du quatrième jour, tandis que l'écart est énorme pour les quatre premiers jours. Mêmes résultats pour les bouillons I et II. Il est clair que, dans les deux premiers jours, la destruction des acides organiques est à peu de chose près aussi intense que dans les jours suivants; et que du deuxième au quatrième jour, elle porte en réalité sur des quantités bien plus importantes que celles qui disparaissent. Entre CO_2 provenant dans le bouillon III₂ des acides disparus pendant les quatre premiers jours (320 milligrammes), et CO_2 produit dans une culture moyenne (1 gr. 530), l'écart est de 1 gr. 210. On ne peut douter qu'il ne corresponde aux acides dont la production est masquée. En supposant que ces acides soient pour un tiers de l'acide acétique et pour deux tiers de l'acide butyrique, on calculerait par litre 277 milligrammes d'acide acétique et 404 milligrammes d'acide butyrique.

Si nous faisons ensuite le total de cet acide butyrique masqué et de celui dont la production est apparente, ce total dépasse les quantités d'acide butyrique subsistant à la fin de la culture, de 284, 311 et 883 milligrammes respectivement pour nos trois bouillons. On peut donc admettre que la combustion de l'acide butyrique a porté sur la totalité de ce qui existait avant l'ensemencement, plus la différence entre la quantité produite et le résidu à la fin de l'expérience.

Pour l'acide lactique, il est difficile de faire une estimation. Dans le bouillon III₂, il a constamment augmenté, jusqu'au dixième jour; dans le bouillon I₂, il a diminué de 110 milligrammes, puis augmenté de 46 milligrammes, puis diminué à nouveau de 40 milligrammes; dans le bouillon II₂, il a diminué de 90 milligrammes, puis augmenté de 52 milligrammes. Ce qui est certain, c'est qu'il y a eu, probablement dans tous les bouillons, production et destruction simultanée.

Quant aux acides formique et valérianique, le premier a

constamment augmenté dans le bouillon III₂ ; dans les bouillons I₂ et II₂, il y aurait eu des oscillations, d'après les données analytiques ; mais la technique employée pour une partie des dosages n'était pas parfaitement sûre. L'acide valérianique n'apparaît guère qu'au dixième jour ; je n'ai pas de preuve qu'il soit consommé. On ne peut donc pas affirmer que ces deux acides soient une source de CO₂, bien que le fait soit vraisemblable pour l'acide formique.

Je n'essaierai pas de calculer exactement les quantités totales d'acides organiques qui dérivent des acides aminés : il y a trop d'incertitude dans l'estimation de la partie dont la production est masquée. En appliquant les données qui précèdent, on obtiendrait pour les trois bouillons étudiés, après les corrections nécessaires pour ramener au volume de 1.100 cent. cubes, des chiffres correspondant respectivement à environ 1 gr. 600, 1 gr. 275 et 2 gr. 345 de CO₂. La somme de l'acide carbonique provenant des acides existant au moment de l'ensemencement, et de celui qui serait fourni par les acides dérivés des protides, atteindrait, selon les bouillons, de 3 à plus de 4 grammes. Elle serait égale, pour celui où la production apparente des acides est la plus considérable, à la totalité du CO₂ formé dans la culture. Nous ne pouvons pas affirmer que tout le carbone oxydé en CO₂ a passé dans tous les cas par le stade acides organiques ; toujours est-il que la fraction qui y aurait échappé est minime ; du reste on ne peut déceler dans les liquides de culture que des traces d'aldéhydes et d'alcools ; les fonctions autres que la fonction acide paraissent n'avoir chez les dérivés des acides aminés qu'une existence transitoire.

Rapport de l'acide carbonique à l'ammoniaque.

La transformation des acides aminés en acides organiques comporte le départ du groupe NH₃, origine de l'ammoniaque, dont les quantités augmentent progressivement dans le milieu de culture.

Le dégagement d'ammoniaque dans l'atmosphère des ballons est pratiquement nul. Les tubes à acide sulfurique, dans lesquels nous faisons passer le courant d'air entre le

ballon de culture et les tubes où l'on recueillait CO_2 , subissent bien une augmentation de poids, qui peut être en moyenne de 50 à 60 milligrammes pour un mois de culture. Mais lorsqu'on recueille cet acide sulfurique et le soumet à la distillation, après addition d'un excès de soude, il ne se dégage pas de NH_3 . Le gaz ammoniac pourrait avoir été retenu par le chlorure de

TABLEAU III. — Production de NH_3 en milligrammes par culture.

JOURS	I		IV		II		VI	
	NH_3 total	NH_3 par jour	NH_3 total	NH_3 par jour	NH_3 total	NH_3 par jour	NH_3 total	NH_3 par jour
2.	—	—	56,6	28,30	36,7	18,35	53,3	27,65
4.	112,2	28,05	81,4	14,40	—	—	82,4	13,55
6.	136,4	12,10	97,0	7,80	49,2	31,1	—	—
7.	—	—	—	—	—	—	117,8	11,8
8.	—	—	—	—	68,2	9,5	—	—
10.	171,0	8,60	—	—	—	—	141,0	7,73
11.	—	—	116,7	3,94	—	—	—	—
12.	—	—	—	—	100,5	8,1	—	—
14.	195,6	6,15	—	—	—	—	166,0	6,25
16.	—	—	—	—	—	—	—	—
19.	—	—	—	—	—	—	198,9	6,58
21.	—	—	—	—	12,4	5,75	—	—
30.	—	—	—	—	—	—	198,9	0
32.	—	—	—	—	158,4	0,5	—	—
33.	313,0	6,17	—	—	—	—	—	—

calcium des éprouvettes et tubes desséchants; mais du chlorure de calcium employé pour une culture, qui a été recueilli, dissous dans l'eau et distillé en présence de soude, il ne s'est dégagé au plus que 4 milligrammes de NH_3 . Cette quantité est

négligeable et ne saurait du reste être donnée pour rigoureusement exacte. Enfin, sur un ballon de culture spécial, j'ai fait barboter le courant d'air, à la sortie du ballon, dans deux flacons de Durand garnis de SO^4H^2 $n/10$: l'acidité n'a pas varié dans ces flacons après quinze heures de barbotage, réparties sur les douze premiers jours. La production de NH^3

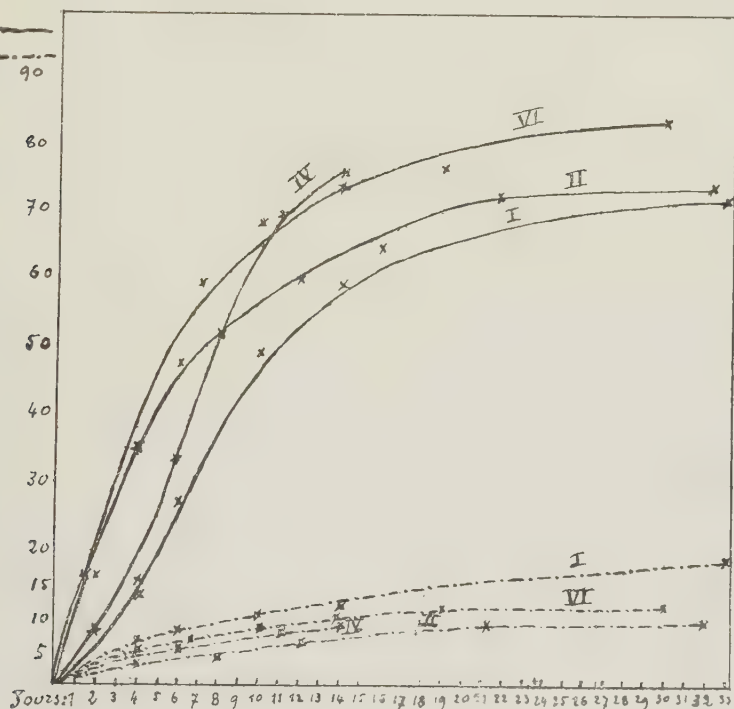


FIG. 1. — C de CO_2 et N de NH_3 , en millièmes de molécule, par ballons de 1.10 cent. cubes.

par le bacille diphtérique est donc intégralement mesurée par les dosages effectués sur le liquide de culture. Le tableau III indique, par analogie avec le tableau I et pour les mêmes cultures, la production de NH_3 de l'origine à la date de chaque prélèvement, et la production moyenne par jour, dans l'intervalle de deux prélèvements successifs.

Pour mieux représenter la marche de la production simultanée de CO_2 et NH_3 , j'ai tracé les courbes de la figure 1. Mais

au lieu des valeurs de CO^2 et NH^3 , j'ai porté en ordonnées celles du carbone et de l'azote correspondantes, parce que C forme 27,27 p. 100 du poids de CO^2 , tandis que N forme 82,35 p. 100 de celui de NH^3 . En outre, j'ai substitué aux valeurs absolues de C et N ces valeurs divisées par les poids moléculaires; ce sont en effet les concentrations moléculaires du carbone et de l'azote dégagés qui donnent la représentation la plus vraie de leur métabolisme dans la vie microbienne.

Les courbes du carbone, comme celles de l'azote, sont parfaitement régulières. Elles correspondent à des phénomènes relativement simples et dépendant de causes continues. Mais la production de l'ammoniaque, tout en étant plus active dans les deux premiers jours et très faible au delà du vingtième jour, est bien loin de se diviser en périodes d'un caractère aussi opposé que celle de l'acide carbonique. Les courbes du carbone présentent seules une ascension énorme et rapide jusque vers le dixième jour, pour devenir ensuite à peu près parallèles à celles de l'azote : La raison principale de cette différence est que l'acide carbonique des premiers jours provient pour une grande part des acides organiques du bouillon Martin. Il n'y a de rapport défini entre les deux courbes qu'autant que ce sont des acides aminés qui fournissent à la fois NH^3 et CO^2 . On peut conclure de la comparaison des courbes que le bacille diphtérique désamine dès le début de la culture des acides aminés, mais qu'il traite aussi les acides acétique et butyrique préexistants comme des aliments de choix.

Il y a dans ces déchets du métabolisme microbien beaucoup plus de molécules de carbone que de molécules d'azote. Si l'attaque des acides aminés se limitait à la mise en liberté des groupes NH^3 et COOH , on trouverait une mol. de N pour une mol. de C. Il est évident que la chaîne entière de l'acide désaminé est oxydée en CO^2 et sans doute H^2O (1). Nous pouvons calculer, pour chaque culture, le rapport $\frac{\text{C}}{\text{N}}$; mais il faut déduire le carbone provenant des acides organiques initiaux.

La moyenne, sur trois bouillons, du CO^2 qui peut être produit par l'oxydation totale des acides acétique, butyrique et

(1) Il n'a pas été vérifié s'il se dégageait ou non de l'hydrogène; du moins n'a-t-on jamais constaté de bulles gazeuses dans les liquides de culture.

lactique est 1 gr. 565 (1), contenant 0 gr. 426 de C. Retrançons ce chiffre du C contenu dans le CO_2 produit par les quatre bouillons des tableaux I et III; calculons en fractions de molécules les valeurs ainsi obtenues pour C, et les valeurs correspondantes de N, puis prenons le rapport $\frac{\text{C}}{\text{N}}$. Nous obtenons les chiffres suivants :

	C en milligrammes	C en molécules	N en molécules	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
I.	433	0,0360	0,0183	1,96
IV.	481	0,0400	0,0085	4,70
II.	461	0,0384	0,0093	4,12
VI.	576	0,0480	0,0114	4,21

Le rapport $\frac{\text{C}}{\text{N}}$ de la culture I est anormal, par comparaison avec les autres cultures. La quantité de NH_3 produite était supérieure de plus de 50 p. 100 à celle de la culture VI et de 100 p. 100 à celle de la culture II; au contraire, la production de CO_2 était notablement inférieure. Les deux faits s'expliquent par l'hypothèse que le bouillon était pauvre à l'origine en acides organiques, défaut qui a été compensé par une désamination plus active et une consommation plus forte de carbone emprunté aux acides aminés. Le chiffre de 433 milligrammes que j'ai calculé pour cette culture est donc trop faible, parce que celui de 426 milligrammes, qui a été déduit pour tenir compte du carbone des acides organiques initiaux, est trop fort. Inversement le chiffre de l'azote est trop élevé, parce que la présence d'acides organiques aurait diminué l'attaque des acides aminés. Une double rectification relèverait la valeur du rapport $\frac{\text{C}}{\text{N}}$ au taux moyen des autres cultures.

Or, ce taux indique une proportion de plus de 4 molécules de C pour 1 de N, correspondant à un acide aminé « moyen » à plus de quatre atomes de carbone. Si l'on remarque en outre

(1) Ce chiffre a été obtenu avec un litre de milieu de culture; pour les bouillons des tableaux I et III, on aensemencé 1.100 cent. cubes; mais le volume a été ensuite réduit par les prélèvements successifs et le total de CO_2 dégagé inférieur, pour ces bouillons, de 15 p. 100 en moyenne à celui d'une culture sur 1.100 cent. cubes. C'est pourquoi les chiffres empruntés aux deux groupes de bouillons ont été considérés, sans corrections, comme correspondant au même volume de culture.

que l'ammoniaque existant dans le liquide de culture à la fin de l'expérience provient de la totalité des acides désaminés, et qu'une partie des acides organiques résultant de la désamination subsiste à ce moment dans le milieu, on est conduit à admettre que l'attaque des acides aminés a surtout porté sur des corps dans lesquels le rapport de N à C est de 1 à 5. Si des acides aminés dans lesquels la proportion du carbone par rapport à l'azote est plus faible ont été détruits, l'équilibre a dû être rétabli par la destruction simultanée du seul acide en C⁶, la leucine. Rappelons quelle est la valeur du rapport $\frac{C}{N}$ dans les divers acides aminés et diaminés :

6 : leucines, acide diaminotrioxydodécanique.

$\frac{11}{2}$: tryptophane.

5 : acide glutamique, valine, proline et oxyproline, arginine, en supposant le groupe guanidique séparé, mais non oxydé.

4 : acide aspartique.

3 : alanine, sérine, cystine, lysine, tryptophane et histidine, en supposant les noyaux de l'indol et l'imidazol séparés et non détruits.

2 : glycocolle, taurine, histidine.

$\frac{6}{4}$: arginine.

J'ai relevé d'autre part, dans deux tableaux d'analyses de muscle (tissu qui présente le plus d'analogie avec les substances entrant dans la préparation des milieux de culture) les chiffres suivants : acide glutamique 15,5 et 14,88 p. 100 ; leucine 11,6 et 8,78 p. 100 ; acide aspartique 4,5 et 3,47 p. 100 ; proline 5,8 et 2,28 p. 100 ; arginine 7,4 et 7,38 p. 100. La somme de ces cinq corps forme 66,8 p. 100 du total identifié pour un tableau, et 69,4 p. 100 pour l'autre.

Nous ne pouvons pas tirer de déductions certaines de la nature des acides gras qui apparaissent dans les cultures. Il est possible que l'acide acétique résulte d'une dislocation profonde d'un acide aminé à chaîne plus longue ; c'est certainement le cas pour l'acide formique, dont il s'accumule des quantités appréciables, jusqu'à 182 milligrammes par litre. D'autre part, l'acide butyrique peut être le produit d'une condensation de

chaînon plus courts, dont les fonctions chimiques responsables de la liaison auraient ensuite disparu. On ne peut cependant pas négliger le fait que l'acide butyrique est un produit direct de désintégration de l'acide glutamique (1), qui doit être l'acide aminé le plus abondant dans le bouillon Martin. L'acide butyrique est aussi celui des acides gras dont la production, même apparente, est le plus considérable; elle a atteint 779 milligrammes dans le bouillon II₃. Il est vrai toutefois que l'acide acétique ne s'accumule pas comme lui dans les liquides de culture, parce qu'il disparaît par oxydation en CO² et H²O, plus rapidement que l'acide butyrique. L'acide acétique et l'acide formique ont du reste été aussi signalés parmi les produits de désintégration de l'acide glutamique.

Davis et Ferry (2), dans leurs intéressantes expériences de culture du bacille diphtérique sur des milieux synthétiques, ont essayé plusieurs combinaisons d'acide aminés. Aucune n'a donné ni une culture riche, ni une toxine de force moyenne, sans l'addition d'une faible proportion de bouillon ordinaire; mais les éléments communs aux quatre mélanges qui ont paru les meilleurs sont: l'acide glutamique (1 gr. 90 à 2 gr. 50 de chlorhydrate), le tryptophane (0 gr. 40 à 1 gr. 60), la cystine (0 gr. 40) et le chlorhydrate d'histidine (0 gr. 40 à 1 gr. 20). D'autre part, Abderhalden (3) a constaté que, pour maintenir à poids constant et en équilibre azoté des souris nourries avec des acides aminés, il fallait leur fournir au moins: 1° l'acide glutamique, l'acide aspartique et un des trois isomères en C⁶; 2° le tryptophane et la cystine; 3° l'arginine, la lysine et l'histidine. Ces rapprochements créent de fortes présomptions en faveur de certains acides aminés, qui entreront sans doute dans la composition des milieux synthétiques définitifs, lorsqu'on aura trouvé quelles substances il convient de leur adjoindre, pour obtenir de bonnes cultures.

(1) NEUBERG ET ROSENBERG. *Biochem. Zeitschr.*, 7, 1907, p. 178. — NEUBERG et BRASCH. *Ibid.*, 43, 1908, p. 299. — BORCHARDT. *Zeitschr. f. physiolog. Chemie*, 59, 1909, p. 96.

(2) *Journal of Bacteriology*, 4, 1919, p. 217.

(3) *Pflüger's Archiv f. d. gesam. Physiol.*, 195, 1922, p. 199.

Énergie emmagasinée dans les corps microbiens et énergie fournie par la combustion des aliments.

L'oxydation du carbone en CO_2 , et celle de l'hydrogène en H_2O qui l'accompagne selon toute vraisemblance, sont une source d'énergie. Essayons d'estimer cette énergie, en chaleur dégagée, et comparons-la à la chaleur de combustion des corps microbiens.

Rubner a déterminé, par calorimétrie directe, la chaleur dégagée dans la combustion de quelques espèces bactériennes. Il a trouvé les chiffres suivants, par gramme de microbes secs (1) :

	CALORIES
<i>Proteus vulgaris</i>	4,741
<i>Proteus vulgaris</i> , autre souche.	4,545
<i>Prodigiosus</i>	4,764
Espèce pure isolée des œufs	4,042
Levure basse	4,475
Levure haute	4,354

(Ces valeurs sont influencées par la teneur en matières grasses qui les élève, et en cendres, qui les abaisse.) En adoptant, par analogie, un chiffre moyen de 4,5 cal. par gramme, on aurait pour les 1 gr. 100 de nos cultures moyennes une chaleur de combustion de 4 cal. 95.

La chaleur dégagée dans la production de CO_2 et H_2O ne peut pas être déduite ni du CO_2 recueilli, ni de l'O consommé. Les rapports entre les quantités de gaz carbonique ou d'oxygène, et les quantités de chaleur dégagées dans les combustions, varient trop largement selon les corps qui ont été brûlés. Il faut donc tenter une estimation directe, en distinguant les deux sources d'énergie, acides organiques initiaux et protides. Je me suis servi pour ces calculs des données thermochimiques extraites des mémoires de Berthelot et de ses collaborateurs (2). Pour les chaleurs de combustion des corps qui ne sont pas mentionnés dans ces mémoires, je les ai ou calculées approxi-

(1) *Archiv f. Hygiene*, 48 (1903), p. 268.

(2) *Annales de Physique et de Chimie*, 4^e série, 6 (1865), p. 329; 6^e série, 11 (1887), p. 220; 6^e série, 27 (1892), p. 340; 6^e série, 20 (1894), p. 1; 7^e série, 1 (1894), p. 145; 7^e série, 6 (1895), p. 145 et 232.

mativement en retranchant la chaleur de formation à partir des éléments de la chaleur de combustion du carbone et de l'hydrogène, ou simplement déduites de celles de corps très voisins, d'après les différences des chaleurs de formation à partir des éléments.

A. ACIDES ORGANIQUES INITIAUX. — En prenant la moyenne des chiffres d'acides acétique, butyrique et lactique des bouillons I₂, II₂ et III₂ et en multipliant par le nombre de calories que dégage la combustion de 1 gramme d'acide, on obtient les valeurs suivantes :

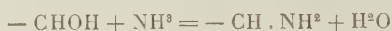
	ACIDES par litre en grammes	CALORIES par gramme	CALORIES dégagées
Acide acétique.	0,358	3,490	1,249
Acide butyrique	0,442	5,647	2,495
Acide lactique.	0,109	3,582	0,390
Total			4,134

Pour 1.100 cent. cubes de milieu : 4 cal. 547.

B. PROTIDES. — Envisageons d'abord l'étape la plus importante de l'action du microbe sur les protides, la transformation des acides aminés en NH₃, CO₂ et H₂O. Ignorant sur quels acides aminés porte l'attaque, nous ne pouvons raisonner que sur un acide symbolique, monoaminé et à cinq atomes de carbone, selon la proportion de l'azote au carbone que l'analyse a démontrée. En outre, si l'acide glutamique tient une place importante dans la nutrition du bacille diphtérique, notre acide symbolique sera pour une partie un acide dicarbonique ; nous fixerons, arbitrairement, cette partie à 50 p. 100. En d'autres termes, nous considérerons pour les calculs les acides aminés détruits comme constitués par un mélange à parties égales d'acide glutamique et d'acide α-aminovalérique. La combinaison moyenne d'acides organiques initiaux adoptée ci-dessus produit, par combustion complète, 1 gr. 721 de CO₂, pour 1.100 cent. cubes. Pour arriver aux 4 grammes d'une culture moyenne, il manque 2 gr. 279, contenant 0 gr. 622 de C. Réparti entre les deux acides aminés, ce carbone correspond à 0 gr. 762 d'acide glutamique et 0 gr. 606 d'acide aminovalérique.

La combustion du carbone ne commence probablement qu'après la désamination ou en même temps qu'elle. Quelle est

la réaction qui intervient dans la désamination? Les deux processus les plus vraisemblables, qui accompagneraient le départ de NH_3 , sont soit la formation d'un acide α -cétonique, soit celle d'un acide-alcool. Il y a peu de données, dans la littérature scientifique, sur les phénomènes thermiques dans la première de ces deux réactions et elles ne concordent pas entre elles; au contraire, la formation des acides aminés à partir des acides-alcools a été étudiée par Berthelot. Je raisonnerai donc seulement sur cette dernière (1). La réaction



dégage + 14 cal. 6 pour l'alanine, + 15 cal. 3 pour la leucine et + 8 cal. 0 pour l'acide aspartique, l'acide-alcool et l'acide aminé étant à l'état solide, l'ammoniaque et l'eau à l'état gazeux. Pour ramener tous les corps à l'état dissous, il faut tenir compte des chaleurs de dissolution pour les corps solides et pour NH_3 , de la chaleur de condensation pour l'eau. En ce qui concerne les solides, ce facteur est négligeable, les chaleurs de dissolution de l'acide-alcool et de l'acide aminé étant très voisines l'une de l'autre. Mais la chaleur de transformation de NH_3 gazeux en NH_4OH dissoute est + 8 cal. 82, et la chaleur de condensation de l'eau gazeuse est + 10 cal. 9, à 10°5; la différence entraîne un dégagement supplémentaire de + 2 cal. 08. Au total, on peut estimer la chaleur de formation de l'acide aminé en C^3 , à partir de l'acide-alcool correspondant, à + 17 calories pour l'acide monocarboxylique et à + 10 calories pour l'acide dicarboxylique; soit par gramme d'acide aminovalérique + 0 cal. 145 et par gramme d'acide glutamique + 0 cal. 068. Inversement, la désamination se fera avec une absorption de chaleur équivalente, soit — 0 cal. 145 pour la formation de l'acide α -oxyvalérique et — 0 cal. 068 pour celle de l'acide α -oxyglutarique.

(1) Wurmser admet que la combinaison de l'ammoniaque avec l'acide pyruvique est une réaction endothermique (*Bulletin Soc. Chimie biologique*, 5, 1923, p. 520), hypothèse adoptée par Terroine (*C. R. Acad. Sciences*, 178, 1924, p. 1489). D'autre part, d'après Lefèvre, la désamination de l'alanine en acide pyruvique serait un phénomène thermochimiquement neutre (*Bull. Soc. Hygiène alimentaire*, 10, 1922, p. 595). A vrai dire, les quantités d'énergie qui entrent en jeu dans la formation, soit de l'acide cétonique, soit de l'acide-alcool, sont relativement faibles: voilà surtout ce que l'essai de calcul que j'ai tenté a pour but d'établir.

Mais en même temps la neutralisation des acides-alcools par l'alcali du milieu produit un dégagement de chaleur. La chaleur de neutralisation des acides-alcools est, d'après Berthelot, sensiblement la même que celle des acides de la série de l'acide formique, + 14 cal. 5 pour l'acide valérique, + 26 cal. 23 pour l'acide malique (avec la potasse). Au contraire celle des acides aminés est faible, + 3 calories pour le glycocolle, + 2 cal. 9 pour l'alanine, + 6 cal. 5 pour l'acide aspartique. La différence a pour conséquence un dégagement de chaleur dans le passage de l'acide aminé à l'acide-alcool, qui serait d'environ + 11 calories pour l'acide monocarboxylique, et + 20 calories pour l'acide dicarboxylique; c'est-à-dire + 0 cal. 093 par gramme d'acide oxyvalérique et + 0 cal. 135 par gramme d'acide oxyglutarique. Les poids de ces acides-alcools, qui correspondent aux poids des acides aminés calculés plus haut, sont respectivement 0 gr. 611 et 0 gr. 767. La combustion des acides aminés, jusqu'à l'état de CO^2 et H^2O , produirait donc les quantités de chaleur suivantes :

Acide aminovalérique.

Désamination.	$0,606 \times (-0,145) = -0,087$	
Neutralisation	$0,611 \times (+0,093) =$	+ 0,056
Combustion.	$0,611 \times (+5,336) =$	+ 3,260

Acide glutamique.

Désamination.	$0,762 \times (-0,068) = -0,052$	
Neutralisation	$0,767 \times (+0,135) =$	+ 0,103
Combustion	$0,767 \times (+3,628) =$	+ 2,783

Totaux $-0,139 + 6,202$

Total général. + 6 cal. 063

Pour totaliser les effets thermiques dont l'activité biologique du bacille diphtérique est la cause, il nous reste à apprécier les dégagements de chaleur liés à la formation des acides organiques non oxydés à la fin de l'expérience, et à l'hydrolyse des protides jusqu'au stade acide aminés.

C. ACIDES ORGANIQUES RESTANTS. — Le calcul peut s'établir de la manière suivante : il restait au vingtième jour, dans la culture I, 46 cent. cubes n/10 d'acides volatils par litre. Suppo-

sons qu'en prolongeant l'expérience jusqu'au trentième jour, il en serait encore disparu 2 cent. cubes; resteraient 44 cent. cubes n/10. (On peut négliger les acides fixes, qui ne dépassaient pas 2 c.c. 4 au vingtième jour; cela compensera ce que le chiffre de 44 cent. cubes peut avoir d'un peu fort.) La répartition entre les divers acides volatils a varié selon les cultures, mais ils se sont toujours classés dans le même ordre d'importance. Les proportions moyennes peuvent être estimées, au trentième jour, à 40 p. 100 d'acide formique, 2 p. 100 d'acide acétique, 51 p. 100 d'acide butyrique et 7 p. 100 d'acide valérianique. On calcule d'après ces données les quantités suivantes des divers acides :

	EN MILLIGRAMMES
Acide formique	81
Acide acétique	5
Acide butyrique.	198
Acide valérianique	39

Le carbone de ces acides forme un total de 154 milligrammes, correspondant à 151 milligrammes d'acide aminovalérique et 190 milligrammes d'acide glutamique. Pour passer de ces acides aminés aux acides gras, il faut envisager :

1° La chaleur de désamination.

2° La chaleur de neutralisation des acides formés.

3° La transformation des acides-alcools à cinq atomes de carbone en acides gras à chaîne plus courte. Cette dernière opération, la plus importante, ne saurait être appréciée exactement; nous avons trop peu d'indications sur les réactions qui interviennent et sur les phénomènes thermiques concomitants. Représentons-les grossièrement, en supposant qu'un groupement CH_2 est oxydé en COOH , ce qui provoque la rupture de la chaîne. Cette réaction produit un dégagement de chaleur moyen de 92 calories, soit par gramme d'acide oxyvalérique 0 cal. 779 et par gramme d'acide oxyglutarique. 0 cal. 621.

4° La chaleur de neutralisation de cette nouvelle fonction acide, à raison de 14 calories, chiffre moyen, par molécule de chacun des deux acides-alcools, soit 0 cal. 118 par gramme d'acide oxyvalérique et 0 cal., 094 par gramme d'acide oxyglutarique.

On obtient enfin :

Acide aminovalérique.

Désamination.	$0,151 \times (-0,145) =$	$-0,022$
Neutralisation	$0,152 \times (+0,093) =$	$+0,014$
Oxydation	$0,152 \times (+0,779) =$	$+0,118$
Deuxième neutralisation. . . .	$0,152 \times (+0,118) =$	$+0,018$

Acide glutamique.

Désamination.	$0,190 \times (-0,068) =$	$-0,013$
Neutralisation.	$0,191 \times (+0,135) =$	$+0,025$
Oxydation	$0,191 \times (+0,621) =$	$+0,118$
Deuxième neutralisation	$0,191 \times (+0,094) =$	$+0,018$
Totaux.	$=$	$-0,035 + 0,311$
Total général.		0 cal. 276

Pour 1.100 cent. cubes de milieu : 0 cal. 303.

D. FORMATION DES ACIDES AMINÉS. — Les réactions qui unissent les acides aminés dans une molécule protéique sont comparables à des éthérifications. Or la formation d'une fonction éther absorbe environ 2 calories. Inversement, l'hydrolyse dégagera 2 calories. Mais il faut considérer chaque acide aminé comme lié dans la molécule à au moins deux autres acides aminés. La mise en liberté de cet acide dégagerait donc 4 calories. Nous ferons pour les calculs l'hypothèse d'un acide symbolique monoaminé, à 4 atomes de carbone de poids moléculaire = 103 (1). La libération des acides aminés provoquerait en définitive un dégagement de 0 cal. 04 environ par gramme.

Je n'ai pas jusqu'ici étudié moi-même la formation des acides aminés dans le bouillon Martin. J'utiliserai les chiffres publiés par A. F. Watson et U. Wallace (2). Ils ont dosé l'azote aminé, par la méthode de van Slyke, dans des cultures de bacille diphtérique (Park-Williams n° 8) sur divers milieux, dont le bouillon Martin préparé suivant la technique de l'Institut Pasteur. Leur bouillon contenait avant l'ensemencement 0 gr. 523 de N aminé par litre; cette quantité a augmenté jusqu'à 0 gr. 769, par la mise en liberté de 0 gr. 246 de N aminé. Calculons les poids correspondants d'acide aminé en C⁴. Nous obtenons :

(1) L'hypothèse d'un acide à cinq atomes de C ne tiendrait pas suffisamment compte des acides aminés à chaîne courte, qui restent probablement inattaqués dans le milieu de culture.

(2) *Journ. of Pathology a. Bacteriology*, 27, 1924, p. 290.

	EN GRAMMES
Acides aminés à l'origine	3,847
Acides aminés produits	1,810
Acides aminés à la fin.	5,657

Il n'est pas spécifié dans le tableau de Watson et Wallace si ce dernier chiffre est le maximum obtenu, ou s'il a existé quelques jours auparavant une teneur plus élevée en acides aminés, dont une fraction aurait été détruite. Semblable diminution est mentionnée dans un autre tableau (1); comme elle ne dépasserait pas 0 gr. 544 d'acides aminés, dans un bouillon où la richesse maxima atteignait 12 gr. 874 (selon notre mode de calcul), l'erreur serait sans importance. Mais, à la production apparente d'acides aminés, il faut ajouter les quantités qui ont été transformées après désamination, soit en CO^2 et H^2O , soit en acides gras. En additionnant les chiffres cités plus haut pour nos bouillons, on trouve que la somme de ces acides est 1 gr. 812. De là :

Acides aminés libérés en grammes	3,622
Chaleur de formation en calories.	0,145
Pour 1.400 cent. cubes de culture, en calories.	0,159

Le total de la chaleur dégagée par l'ensemble des réactions dont nous avons poursuivi l'examen s'établit comme il suit :

	EN CALORIES
Combustion des acides organiques initiaux	4,547
Combustion des protides.	6,063
Formation des acides restants	0,303
Hydrolyse des protides	0,159
Total	11,072

On remarquera que les combustions qui aboutissent à l'acide carbonique et l'eau (acides organiques et protides) fournissent ensemble 10 cal. 610, c'est-à-dire 95,82 p. 100 de la chaleur dégagée. Elles mobilisent la presque totalité de l'énergie mise en œuvre.

Calculons la consommation d'oxygène impliquée dans les diverses réactions, d'après les poids des substances oxydées, par culture de 1.400 cent. cubes :

(1) *Ibid.*, p. 281.

	GRAMMES
Acide acétique	$0,393 \times 1,066 = 0,419$
Acide butyrique.	$0,486 \times 1,818 = 0,883$
Acide lactique.	$0,119 \times 1,066 = 0,126$
Acide oxyvalérique	$0,611 \times 1,627 = 0,994$
Acide oxyglutarique.	$0,767 \times 0,972 = 0,746$
Acides restants a).	$0,166 \times 0,273 = 0,045$
» » b).	$0,209 \times 0,217 = 0,045$
Total.	<u>3,258</u>

Ces 3 gr. 258 d'oxygène représentent les besoins minima d'une culture qui fournit 1 gr. 100 de microbes secs : soit en volume 2 l. 280, à 0° et 760 millimètres.

Le dégagement de chaleur produit des élévations de la température, qui ont été constatées et mesurées directement par Rubner (1). D'autre part, il fournit probablement l'énergie nécessaire aux réactions endothermiques, dont le résultat est la synthèse de la substance microbienne. Nous avons en effet complètement négligé dans cet aperçu les phénomènes de synthèse. Nous le pouvions, car il est clair que le poids de la masse microbienne est égal au poids des éléments du milieu qui sont entrés dans sa constitution ; et la composition élémentaire des bactéries est de plus, d'après les analyses connues, très peu différente de celle des peptones. Mais ce qui caractérise la synthèse microbienne, par opposition aux réactions que nous avons étudiées, c'est l'importance qualitative des principes immédiats qu'elle utilise. Je reviendrai sur ce point un peu plus loin.

En rapprochant les chiffres calculés pour la chaleur de combustion d'une culture moyenne, 4 cal. 95, de la somme de l'énergie fournie par la combustion des aliments, plus cette chaleur de combustion (= 16.022 calories), on obtient entre la première et la seconde valeur un rapport de 30.89 p. 100. Le même rapport a été calculé par Rubner, pour diverses espèces bactériennes, par une voie totalement différente : il obtenait la chaleur dégagée pendant la culture par la différence entre les mesures calorimétriques de la chaleur de combustion du milieu, avant l'ensemencement et après la récolte. Or Rubner a trouvé les rapports suivants (2) :

(1) *Archiv f. Hygiene*, 48, 1903, p. 260 et 57, 1906, p. 193.

(2) *Archiv f. Hygiene*, 57, p. 217.

	POUR 100
Colibacille	30,8
Pyocyanique	27,7
Thermophiles.	24,9
Vibron cholérique	17,0
Bacille typhique	11,6
Bacille diphtérique.	12,0

Les chiffres sont aussi voisins que possible du mien pour les trois premières espèces. Ils en diffèrent au contraire pour les trois dernières. Mais Rubner a fait ces expériences avec un très mauvais milieu, une dilution à 6 p. 100 d'extrait de viande concentré. Les cultures étaient à peu près normales pour les premières espèces, peu exigeantes; elles étaient très maigres pour les espèces pathogènes, surtout pour le bacille diphtérique. La perte d'énergie croît donc dans des proportions considérables, quand la composition du milieu n'est pas adaptée aux besoins nutritifs du microbe.

La coïncidence de notre rapport avec ceux de Rubner, quand ils sont obtenus sur des milieux suffisants, apporte la preuve que nous avons épuisé dans nos calculs la liste des réactions thermiques quantitativement importantes; celles qui nous ont échappé ne dépassent pas en amplitude les erreurs inévitables dans des calculs aussi approximatifs.

Des deux sources d'énergie que le bouillon Martin met à la disposition du microbe, les protides fournissent 57 p. 100 de la chaleur produite. D'après les données qui précèdent, on peut résumer ainsi l'utilisation de ce qu'on appelle couramment les peptones :

	EN GRAMMES
A. Acides aminés à l'origine	3,847
Acides aminés produits	3,622
Acides aminés détruits	1,812
Reste inattaqué	3,677
B. Substance microbienne	1,400
C. Substances protéiques totales du milieu	25,670
D. Acides aminés détruits, plus substance microbienne.	2,912

On déduit de ces chiffres que :

1° Lorsque l'activité de la culture arrive à son terme, le bacille diphthérique n'a utilisé que 11,34 p. 100 des substances protéiques offertes ;

2° Bien que le milieu contienne à l'origine deux fois plus d'acides aminés que le métabolisme microbien n'en consommera, le bacille en libère encore une quantité presque égale à celle qui existait déjà ;

3° Sur les 7 gr. 469 d'acides aminés qui ont existé au total dans la culture, la proportion utilisée n'est que de 24,26 p. 100, en chiffres ronds le quart ;

4° Les acides aminés qui ont perdu le groupement NH_2 sont entièrement brûlés dans la proportion de 84,1 p. 100 (acides aminés disparus : 4 gr. 471 ; acides transformés en acides gras restants : 0 gr. 344) ; de plus, les acides restants sont pour plus de la moitié facilement combustibles.

Ces faits nous paraissent démontrer que tous les acides aminés ne conviennent pas à la nutrition, ou à la synthèse, du microbe ; il y a déchet des trois quarts, parce qu'il y a choix. (Peut-être faut-il cependant considérer une partie des phénomènes d'hydrolyse comme indépendants des besoins directs du bacille, parce qu'ils seraient dus simplement à la diffusion d'un enzyme protéolytique dans les liquides de culture.)

Au contraire, les acides aminés attaqués sont détruits pour ainsi dire sans déchet, NH_3 excepté. La production de chaleur, la mobilisation d'énergie, paraît être la seule cause de cette phase de l'utilisation des protides. Mais puisque ceux-ci ne sont brûlés qu'après transformation en substances ternaires, ne serait-il pas logique d'éviter au microbe l'hydrolyse des protides et la désamination des acides aminés, eu lui fournissant d'emblée des sels d'acides organiques à consommer ? Le problème est facile à résoudre pour les espèces bactériennes peu exigeantes, et même pour celles des bactéries pathogènes qui vivent en réalité en saprophytes dans l'intestin. Il n'a guère été abordé jusqu'ici pour les espèces qui végètent seulement dans les humeurs et les tissus.

Certaines substances ternaires, qui dériveraient des protides dans les bouillons peptonés, sont-elles indispensables ? Peut-être est-il possible de remplacer par des substances ternaires les protides en tant que source d'énergie par leur carbone, mais

pas en tant qu'origine du carbone qui entre dans la composition de la substance microbienne. S'il n'est pas certain que l'opposition des deux fonctions existe pour le carbone, à coup sûr elle est essentielle pour l'azote. Ou plutôt, au point de vue énergétique, le rôle de l'azote paraît nul. Au contraire, il est prépondérant au point de vue de la synthèse de la substance microbienne. Les quantités en jeu dans cette synthèse sont minimales. Il ne semble pas utile d'offrir au microbe plus d'azote qu'il n'en entrera dans sa propre constitution chimique. Or d'après les analyses de bacille diphtérique de Dzierzowski et Rekowski (1), qui ont trouvé 11,2 p. 100 de N et 48,9 p. 100 de C., il ne faudrait pour 1 gr. 100 de microbes secs que 123 milligrammes d'azote, tandis que la synthèse de la substance microbienne et la production de CO_2 exigent 1 gr. 6287 de carbone. Mais je ne crois pas qu'une bactérie pathogène puisse édifier sa propre substance, et surtout ses principes immédiats spécifiques, ses antigènes, ses toxines, avec des matériaux azotés quelconques. Certaines substances simples, ou certains complexes, sont probablement indispensables. C'est parce qu'ils ne forment qu'une infime fraction des matières azotées des macérations de viande ou des diverses préparations de peptones, que nous sommes obligés d'offrir au microbe dix fois plus d'azote qu'il n'en utilisera.

Conclusions.

Une culture de bacille diphtérique, en bouillon Martin, produit environ 4 grammes d'acide carbonique, pour 1.100 cent. cubes de milieu de culture et 1 gr. 100 de microbes secs.

Environ 80 p. 100 de cet acide carbonique sont formés dans les dix à douze premiers jours de culture, et 95 p. 100 dans les vingt premiers jours. L'activité du microbe est maxima dès les deux premiers jours, quand la réaction initiale est légèrement alcaline; si elle est au départ plus acide que $\text{pH} = 7,0$, la production quotidienne de CO_2 diminue de moitié environ, jusqu'à ce que la zone de neutralité soit franchie; la période de combustion intense ne commence alors qu'après le quatrième jour. La

(1) *Arch. des sc. biologiques de Saint-Petersbourg*, 1892.

production de CO_2 mesure exactement l'activité microbienne et permet d'apprécier la valeur nutritive des milieux de culture.

Le bouillon Martin ne contient pas de sucre. L'acide carbonique provient pour plus du tiers des acides acétique, butyrique et lactique existant dans le bouillon à l'origine, et pour le reste des substances protéiques du milieu. Entre les acides aminés et CO_2 , il y a le stade intermédiaire des acides gras dérivés des acides aminés. Les acides acétique et butyrique sont brûlés plus facilement que l'acide formique et l'acide valérianique.

Si l'on calcule le rapport du carbone contenu dans l'acide carbonique provenant des acides aminés, à l'azote de l'ammoniaque libérée par la désamination, on trouve que ce rapport répondrait à l'attaque d'un acide aminé à cinq atomes de carbone. On en déduirait que le bacille diphtérique utilise surtout l'acide glutamique, hypothèse appuyée par plusieurs autres faits.

En calculant les effets thermochimiques des diverses réactions dont l'analyse des liquides a établi la présomption, on arrive à totaliser la chaleur dégagée par la combustion des éléments du milieu. Le rapport de la chaleur de combustion des corps microbiens à l'énergie totale mise en œuvre dans le système est voisin de 30 p. 100. Il coïncide exactement avec celui que Rubner avait obtenu par des procédés tout différents. On peut en conclure qu'aucune réaction quantitativement importante n'a été omise dans le calcul.

Le besoin d'oxygène a été chiffré à plus de 2 litres pour un ballon de culture.

Le coefficient d'utilisation des substances protéiques du bouillon Martin n'est guère supérieur à 10 p. 100. Les acides aminés présents dans le liquide au cours de la culture ne sont désaminés et consommés que dans la proportion d'un quart. Mais les acides une fois désaminés sont brûlés sans autre déchet important que l'ammoniaque.

Il faut distinguer, dans la nutrition des microbes pathogènes, entre les aliments destinés à entrer dans la composition de la substance bactérienne, et ceux dont la combustion fournit l'énergie nécessaire à la vie; parmi les premiers doivent être compris certains principes azotés, qualitativement indispensables, tandis que les seconds, quantitativement plus importants,

semblent pouvoir consister en substances ternaires, d'un caractère beaucoup moins spécifique.

L'étude quantitative des origines de l'acide carbonique, des rapports de l'acide carbonique à l'ammoniaque, des effets thermiques liés à la combustion des aliments fournis par le milieu, nous a conduit à une vue d'ensemble sur l'activité biochimique du bacille diphtérique. Un peu de lumière a été projetée sur une partie méconnue des phénomènes commandés par la nutrition des microbes dans les bouillons peptonés.

LES STREPTOCOQUES ANAÉROBIES

par ANDRÉ-R. PRÉVOT.

(Travail du laboratoire de M. Weinberg.)

C'est à l'Ecole française que revient le mérite d'avoir attiré l'attention sur les streptocoques anaérobies, d'en avoir donné les premières descriptions et fixé le rôle pathogénique si important. En 1893, Veillon décrit sous le nom de *Micrococcus Fætidus* un coccus se présentant en chaînettes, parfois en diplocoques et en amas, dégageant gaz et odeur fétides de ses cultures, capable de provoquer chez l'animal des abcès chauds. Ce microbe, isolé d'abord dans une angine de Ludwig mortelle, un phlegmon périnéphrétique, et le pus fétide d'une bartholinite, fut retrouvé ensuite fréquemment en France : dans les infections fétides d'origine otique, par Rist ; dans les infections génitales putrides, par Hallé ; dans les processus gangreneux des voies respiratoires, par Guillemot ; dans les infections urinaires, par Cottet. Dès lors, *Micrococcus Fætidus* est considéré comme une bactérie très fréquente, pathogène, capable de provoquer non seulement des abcès fétides, mais des gangrènes extensives pouvant tuer l'animal, comme l'ont démontré expérimentalement Hallé, Rist et Guillemot, Jeannin et d'autres auteurs.

Mais si ces points demeurent inattaquables, il fut impossible aux auteurs français de discerner les rapports entre *Micrococcus Fætidus* et les streptocoques anaérobies signalés par les auteurs allemands Krönig et Menge, dès 1893.

A lire les nombreux travaux de ces auteurs, on a la certitude qu'ils ont eu entre leurs mains des souches de toutes les espèces fréquentes de streptocoques anaérobies, et qu'ils ont parfaitement entrevu les inéluctables différences spécifiques de ces souches : présence ou absence de gaz et d'odeur fétides ; culture troublant le bouillon ou le laissant clair ; différence de taille des cocci, aspects différents des chaînettes ; métabolisme différent

des milieux et même inconstance de l'anaérobiose pour certains. Mais leurs classifications, fondées sur l'un ou l'autre de ces caractères, échouèrent, et il ne resta de ces travaux que l'existence, d'ailleurs contestée, de streptocoques anaérobies qu'on appellera pendant longtemps, en Allemagne et en France, « les Streptocoques anaérobies de Krönig et Menge ». Il était donc impossible aux auteurs de comparer et d'identifier leurs souches à une espèce de Streptocoque anaérobie bien définie.

La question va se compliquer singulièrement en 1900, à cause de la description, par Sternberg, sous le titre de : « Un Streptocoque anaérobie », d'un streptocoque à très gros grains, ne coagulant pas le lait, poussant mieux en anaérobiose qu'en aérobiose, mais pouvant cependant pousser en présence d'oxygène libre. L'auteur dit bien « anaérobie de prédilection », mais cette notion si importante, mal interprétée, a donné lieu à l'erreur, aujourd'hui générale, de considérer le streptocoque de Sternberg comme un anaérobie strict alors qu'il s'agit d'un véritable facultatif; nous ne reviendrons donc plus sur cette bactérie, qui ne doit plus être comprise parmi les streptocoques strictement anaérobies.

En 1904, dans le laboratoire du professeur Grancher, Lewkowicz va décrire, sous le nom de *Str. Anaerobius Micros*, une espèce nouvelle isolée de la bouche des nourrissons, bien individualisée par sa taille remarquablement petite, l'absence de gaz et d'odeur dans ses cultures.

Pour être en conformité avec la nomenclature binominale, nous étudierons cette espèce sous le nom de *Streptococcus Micros* (Lew., 1904).

Dès lors, dans les nombreux travaux signalant la présence de Streptocoques anaérobies (Caterina, Bohne, Silberschmidt, Jeannin, P. Gilbert et Lippmann, Lippmann et Foisy, Gouraud, Friedrich, etc., etc., on verra les auteurs tantôt identifier leurs streptocoques aux espèces connues : *M. Foetidus*, *Str. Micros*; tantôt les laisser indéterminés ou vaguement rattachés aux Streptocoques de Krönig et Menge.

C'est le travail de Natvig, en 1905, qui va permettre de sortir des descriptions allemandes une espèce légitime décrite sous le nom de *Str. Anaerobius* (Krönig, 1895) correspondant aux souches de ce dernier, dégageant gaz et odeur dans tous

les milieux, et ne troublant pas le bouillon. Mais l'auteur dit : « Tous les streptocoques anaérobies ne forment qu'une seule espèce, qui est *Streptococcus Anaerobius* », appuyant cette conclusion sur l'étude de six souches. Nous pensons qu'il a eu une série de six souches fort semblables, appartenant probablement toutes à l'espèce qu'il propose, mais qu'à côté de cette espèce, fort fréquente d'ailleurs, il y en a d'autres bien différentes, comme le prouvent les travaux ultérieurs. Eu égard à ce travail capital, nous décrirons cette espèce sous le nom de *Str. Anaerobius* (Krönig, 1895, rev. Natvig, 1905).

A la suite de ce travail, quelques publications signalent des streptocoques anaérobies dans les maladies putrides (Zange-meister, Reibmayr, etc.). Les traités et manuels commencent à en faire mention (Von Winckel, Walthard, Von Herff, Macé, etc.).

En 1907, Gräf et Wittneben décrivent deux souches de streptocoques anaérobies de prédilection, dont l'une nous intéresse particulièrement, car elle présente d'abord une phase d'anaérobiose stricte, pour évoluer ensuite vers l'anaérobiose facultative, conservant cependant une prédilection marquée pour la vie sans air. Le principal signe de cette évolution est le phénomène que l'on pourrait appeler « phénomène des zones alternantes » d'abord vu par Rist en France, puis par Reiner-Müller en Allemagne.

De nouveau, cette notion d'anaérobiose de prédilection donne matière à la même confusion que le streptocoque de Sternberg. C'est uniquement pour ne pas consacrer l'erreur qui consiste à décrire la souche « *Schwarzenbeck* » de ces auteurs comme un streptocoque strictement anaérobie, que nous l'appellerons *Str. Evolutus* (G. et W., 1907).

La dernière espèce décrite sera celle de Schottmüller (1) qui, comme Natvig, se réclame des travaux de Krönig et Menge. *Streptococcus Putridus* (Schottmüller, 1910) correspondant aux souches de ces auteurs ne donnant pas de gaz dans les milieux

(1) Dans un récent travail (*Münch. med. Woch.*, n° 42, 1924), Schottmüller défend, contre une nouvelle manifestation de l'unicisme, la légitimité de cette espèce qui, à notre étonnement, est appelée *Str. Putrificus*. S'agit-il d'un *lapsus calami* de l'auteur ou d'une coquille de l'imprimeur? En tout cas, nous conserverons l'appellation originelle consacrée par le temps et l'usage : *Str. Putridus*.

ordinaires, mais au contraire dans les milieux au sang frais. Il attribue à ce streptocoque putride les infections graves dans lesquelles il le trouve 25 fois, dont 11 fois en culture pure : processus gangreneux et fétides divers, en particulier pulmonaires et génitaux; mais il ne peut pas prouver expérimentalement ce rôle pathogène, et si la nomenclature s'agrémente d'une espèce nouvelle, la pathologie expérimentale reste après lui aussi pauvre en faits que riche en hypothèses.

Les travaux de vérification et de critique suivent, parmi lesquels nous ne signalerons que ceux de Hamm, Veit, Lamers, Warnekros, Goldschmidt, Koch, Bondy, Ozaki, Salus Gottlieb, Rosowsky, etc.

Pendant la guerre, quelques auteurs vont mentionner la présence de streptocoques anaérobies dans les plaies : Marwedel et Wehrsig entre autres signalent deux cas de gangrène gazeuse où ils isolent *Str. Putridus*, dont une fois en culture pure. Ce streptocoque reproduit chez l'animal un phlegmon gazeux hémorragique mortel. Cottet trouve des streptocoques anaérobies dans un tiers des plaies de guerre, mais conclut à la grande difficulté d'identifier les souches trouvées aux espèces décrites. Hautefeuille et Souillé trouvent des streptocoques d'abord anaérobies, qui s'aérobisent ensuite. Gérard et Romant trouvent le streptocoque de Sternberg, dont ils disent que c'est un anaérobie strict. Veillon trouve *M. Fœtidus* dans les plaies anciennes. D'autres auteurs en trouvent sans pouvoir les déterminer.

Enfin, les travaux récents mentionnent surtout le streptocoque putride de Schottmüller, dont Bingold révèle la fréquence dans l'embolie pulmonaire putride, dont Brütt signale la présence quasi constante dans l'appendicite destructive qui, d'après cet auteur, relèverait presque toujours de cet agent; auquel Kissling, enfin, attribue une part importante dans l'étiologie de la gangrène pulmonaire.

Tel est, brièvement résumé, l'état de la question, dont l'exposé détaillé ainsi que la bibliographie ont été donnés dans l'introduction de notre thèse (1).

(1) A.-R. PRÉVOT, Les streptocoques anaérobies. *Thèse de Paris*, 1924. Edit., Amédée Legrand, Paris.

Si les auteurs ont trouvé fréquemment des streptocoques anaérobies, il ne leur a pas toujours été possible de les déterminer, ni surtout de mettre en évidence leur pouvoir pathogène. Ayant nous-même, au cours de nos recherches, isolé plusieurs fois des streptocoques anaérobies, et n'ayant pas pu les déterminer, nous avons entrepris, sur le conseil de M. Weinberg, leur étude systématique en remontant aux descriptions originales, et en essayant de retrouver les espèces proposées; nous avons pu ainsi les étudier par la technique moderne, en donner une nouvelle description et une classification rationnelle afin de les rendre facilement déterminables (1).

*
* *

Nos recherches ont porté sur 40 cas : 13 cas de gangrène pulmonaire, ayant donné 12 souches (1 fois *M. Fætidus*, 1 fois *Str. Micros.*, 7 fois *Str. Evolutus* et 3 fois *Str. Intermedius*); 6 cas de dilatation bronchique, ayant donné 5 souches (4 fois *Str. Evolutus*, 1 fois *Str. Intermedius*); 10 cas d'infection puerpérale ayant donné 8 souches (1 fois *Micr. Fætidus*, 3 fois *Str. Putridus*, 2 fois *Str. Anaerobius*, 1 fois *Str. Micros.*, 1 fois *Str. Evolutus*); 5 cas d'appendicite nous ayant donné 2 souches (*Str. Evolutus*).

Enfin 6 cas divers ne nous ayant donné aucun résultat.

Au total :

- 2 fois *Micrococcus Fætidus*;
- 3 fois *Str. Putridus*;
- 2 fois *Str. Micros*;
- 4 fois *Str. Intermedius* (n. Sp.);
- 14 fois *Str. Evolutus*.

*
* *

Nous décrirons donc d'abord le groupe important des STREPTOCOQUES FÉTIDES ET GAZOGÈNES (*M. Fætidus*, *Str. Anaerobius*,

(1) Quelques articles de vulgarisation, parus récemment (Politzer), tendent à classer comme streptocoque anaérobie le micro-organisme anaérobie que Di Cristina et, à sa suite, Caronia, Sindoni et leur école incriminent comme agent étiologique de la scarlatine. Nous nous élevons contre cette détermination : Di Cristina et ses élèves ont décrit et figuré un diplocoque et il n'a jamais été question dans leurs travaux originaux de streptocoques anaérobies.

Str. Putridus). Puis les STREPTOCOQUES NI FÉTIDES, NI GAZOGÈNES, dont la seule espèce connue à ce jour était *Str. Micros.*, groupe auquel nous avons ajouté *Str. Intermedius*, espèce nouvelle établie sur l'étude de quatre souches que nous n'avions pas pu identifier à une espèce connue.

Enfin, nous terminerons en décrivant rapidement la seule espèce de streptocoque anaérobie de prédilection qui doit trouver place dans ce travail : *Str. Evolutus*, car elle présente une phase initiale d'anaérobiose stricte. (Les autres streptocoques anaérobies de prédilection, tels que *Str. Sputigenus* (Sternberg) et la souche K. de Gräf et Wittneben étant de véritables facultatifs d'emblée.)

A. — Groupe des streptocoques fétides et gazogènes.

I. — *Micrococcus Fœtidus* (Veillon, 1893).

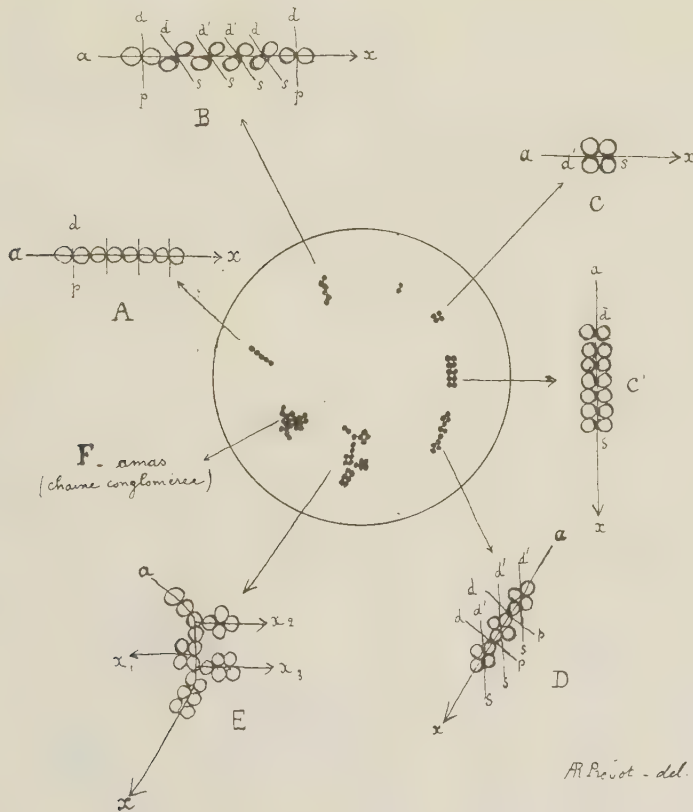
Nous avons trouvé deux souches de cette espèce : *Bah*, dans un cas de gangrène pulmonaire ; *G.* dans les lochies fétides d'une fièvre puerpérale grave. Nous avons pu ainsi compléter la description en introduisant des précisions sur la morphologie, les caractères cultureux (en particulier dans les milieux bioprotéiques et les glucides), le pouvoir pathogène et les tests sérologiques.

MORPHOLOGIE. — C'est un gros coccus, Gram positif, de $0\ \mu\ 8$ à $1\ \mu$ de diamètre, rond ou ovoïde, se présentant dans les sérosités en diplocoques ou en courtes chaînettes ; dans le bouillon neutre en chaînettes de six à huit éléments pouvant présenter des anomalies (Pl. I et II : chaînes en zigzag, doubles chaînes, chaînes de tétrades, chaînes recroquevillées en amas) dues à l'existence d'une direction accessoire de division, oblique ou perpendiculaire à la direction principale. Mais l'aspect streptococcique est toujours reconnaissable en bouillon neutre.

PHYSIOLOGIE. — C'est un streptocoque dont l'anaérobiose est stricte et durable. Il ne pousse bien qu'à 37° , faiblement à 26° , pas au-dessous de 22° . Il n'est pas thermo-résistant (nos souches sont tuées par un chauffage d'une heure à 60°). Sa longévité

est de quinze jours à trois semaines dans les milieux ordinaires. Par la méthode de Truche, on peut le conserver trois mois.

CARACTÈRES CULTURAUX. — En première génération, il pousse parfois très lentement, en quatre à cinq jours ; puis il s'accli-



PL. I. — Les directions accessoires chez *M. Faetidus*.

mate aux milieux chauffés, et pousse en trente-six à quarante-huit heures. Le caractère de ses cultures est la fétidité et le dégagement gazeux.

En bouillon Martin, la croissance est lente et pauvre, en fines paillettes le long des parois du tube, tombant rapidement au fond. Le milieu reste clair ; peu ou pas de gaz. L'odeur fétide est à peine décelable.

En bouillon Martin glucosé, la culture est plus rapide, plus abondante, en grumeaux, ne troublant pas le milieu. Le dégä-

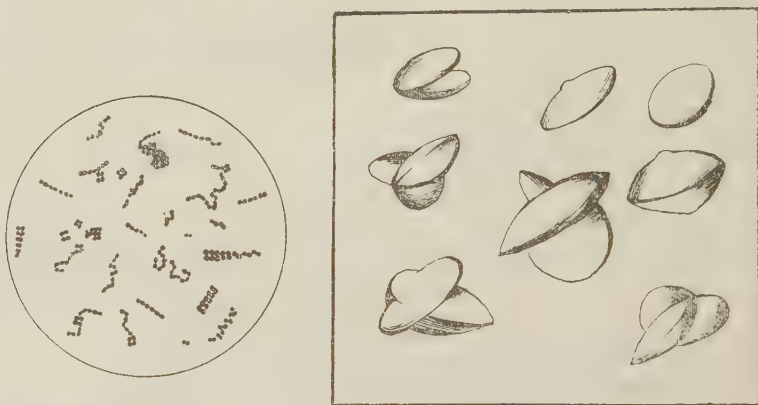


Fig. 1



Fig. 2.

PL. II. — *Micrococcus Fætidus* (Veillon).

FIG. 1, souche Bah, 0 μ 8; FIG. 2, souche G, 0 μ 9-1 μ 2.
(Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.)

gement de gaz est plus marqué; il est fétide, inflammable, explosant dans le tube.

En eau peptonée, culture en fines paillettes avec faible dégagement gazeux.

En gélose Veillon, les colonies poussent assez lentement, surtout dans les premières générations. En quarante-huit heures, on voit de fines colonies punctiformes qui n'atteignent leur complet développement qu'en quatre jours, mesurant alors $1/4$ à $1/2$ millimètre, rarement 1 millimètre; poussant au-dessous d'une zone stérile de 1 à 2 centimètres. Ce sont des colonies très régulières, du type lenticulaire épais; elles sont opaques, trapues, presque toutes composées : processus apicaux, cœurs, trèfles, tricornes, tétraèdres et lampe à arc (Pl. II). La gélose est le plus souvent le siège d'un dégagement gazeux plus ou moins abondant, tantôt constitué par de nombreuses petites bulles, tantôt par d'énormes bulles disloquant la gélose.

Bouillon Weinberg-Goy (produits de la digestion peptique de la viande de bœuf ou de veau additionnée de foie). — Développement très rapide et très abondant. Dégagement gazeux très marqué. Odeur fétide très intense.

Milieux protéiques. — Il n'attaque aucune protéine chauffée : blanc d'œuf coagulé, foie, viande, fibrine, sérum coagulé. Il ne coagule pas le lait, dans lequel il pousse discrètement sans acidification. Il ne liquéfie pas la gélatine, même glucosée, n'y donnant qu'une maigre culture.

Milieux bioprotéiques. (nous employons sous ce nom les organes frais prélevés stérilement, non chauffés, tels que foie, cœur, poumons, reins, sang, de cobayes ou de lapins normaux). — En bouillon additionné de sang frais ou de sérum frais, la culture est rapide et abondante, avec un dégagement gazeux important, et l'odeur caractéristique de sang putréfié.

Les organes frais, poumon, cœur, rate, foie, verdissent, puis noircissent, dégageant une quantité énorme de gaz, contenant de l'acide sulfhydrique, puis sont peu à peu désagrégés : il y a bioprotéolyse partielle et fermentation sulfhydrique.

Milieux différentiels. — *Le Bouillon rouge neutre* est viré au jaune fluorescent.

Glucides (1). — Ils favorisent la croissance et augmentent le dégagement gazeux, qui n'est pas fétide, mais inflammable.

(1) L'action de nos souches sur les glucides a été étudiée par la technique décrite dans la thèse d'A. Berthelot : Ensemencement dans l'eau peptonée neutre ou légèrement alcaline, additionnée de quelques gouttes d'une solution stérile du glucide en eau distillée.

Les hexoses (glucose, lévulose et galactose) sont fortement acidifiés. Parmi les hexobioses étudiés, seul le saccharose est acidifié, le lactose et le maltose restent alcalins. Les autres glucides, arabinose, glycérine, mannite, dulcite et amidon restent alcalins; la souche *G.* acidifie l'inuline.

POUVOIR PATHOGENE. — Veillon avait, avec ses premières souches, provoqué chez le cobaye et la souris des abcès sous-cutanés chauds, non fétides, où on retrouvait le microcoque.

Guillemot, Hallé et Rist ont pu provoquer avec certaines souches actives des gangrènes s'étendant à tous les téguments et amenant la mort en quelques jours. Notre souche *Bah* n'avait aucun pouvoir pathogène primaire. Notre souche *G.* provoquait, en culture pure chez le cobaye, de grosses tuméfactions œdémateuses guérissant en quatre jours.

En association avec la toxine histolytique filtrée, ou avec le bacille histolytique, quand le processus primaire est lent, on peut obtenir des lésions œdémateuses, crépitantes, qui à l'autopsie se révèlent légèrement fétides et gazeuses, et à l'examen direct, contrôlé par l'ensemencement, ne montrent que le microcoque fétide à l'état pur dans le premier cas, associé au bacille histolytique dans le second cas.

Toxine. Hémolysine. — *M. F.* ne sécrète, dans les milieux artificiels, ni toxine, ni hémolysine.

TESTS SÉROLOGIQUES. — L'agglutination est difficile à rechercher sur ces bactéries agglomérées. Il faut les mettre en suspension homogène dans l'eau physiologique par une longue agitation des corps microbiens.

Le sérum anti-*Bah* agglutinait la souche homogène au 1/200 et flocculait son filtrat au 1/50. Il agglutinait la souche *G.* au 1/100, la flocculait au 1/25. Il ne flocculait et n'agglutinait aucune des autres souches de streptocoques anaérobies que nous avons trouvées. Le sérum anti-*G.* n'avait aucune propriété flocculo-agglutinante appréciable.

POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — Si on accepte les précisions restrictives que nous avons apportées à la description de *M. Fætidus*, on est en présence d'une espèce autonome, très

voisine des streptocoques de Krönig et Menge revus par Natvig et Schottmüller, mais qu'il est impossible de confondre avec eux, grâce à sa morphologie spéciale et aux tests d'agglutination. Par sa morphologie particulière, il apparaît comme une forme de transition entre les streptocoques vrais et les microcoques.

Doit-on changer son nom générique ? — Nous ne le pensons pas, pour le moment du moins. En l'absence d'un système uniforme et rationnel de classification, on doit conserver *M. Fœtidus*, consacré par l'usage. *Micrococcus* est un genre résiduel, sans valeur botanique, mais ne préjugéant de rien. Quand on revisera ce genre, on verra s'il faut rattacher au genre streptocoque les cocci en chaînettes présentant une direction accessoire de division.

Dans tous les cas, *M. Fœtidus* restera une espèce de la famille des Streptococcacées et d'un genre très voisin de *Streptococcus*.

II. — *Streptococcus Anaerobius* (Krönig, 1895, rev. Natvig 1905).

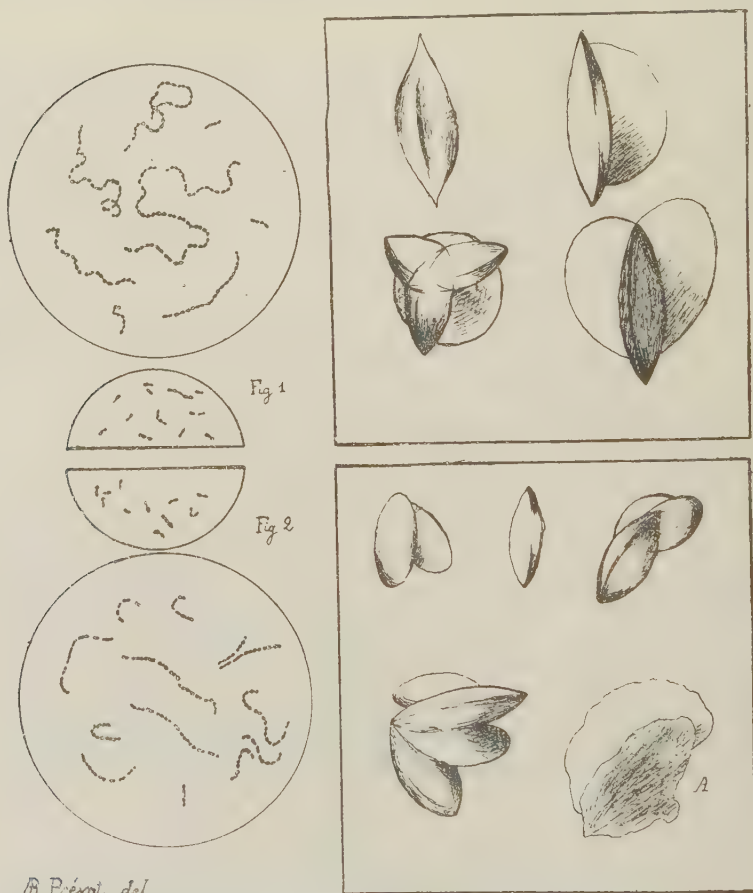
Nous avons trouvé deux souches répondant à la description de Natvig : *YE*, dans un cas d'avortement fébrile à lochies fétides et *MO*, dans une fièvre puerpérale fétide avec petite plaie vulvaire gangreneuse. Nous avons pu ainsi préciser les caractères culturels, en particulier dans les milieux protéiques et les glucides. Enfin, la souche *MO*, par son pouvoir infectieux primaire, et la souche *YE*, par son pouvoir infectieux secondaire, nous ont montré le mode d'action pathogène tant discuté de cette espèce.

MORPHOLOGIE. — Streptocoque, Gram positif, de 0 μ 8 de diamètre, se présentant en courtes chaînettes dans les produits pathologiques et dans les bouillons alcalins; en très longues chaînettes dans le bouillon neutre (Pl. : III).

PHYSIOLOGIE. — C'est un streptocoque dont l'anaérobiose est stricte et durable. Il ne pousse bien qu'à 37°; il peut résister cinq minutes à 60° et deux minutes à 80°, mais un chauffage de dix minutes à 80° le tue. Sa longévité atteint six semaines dans

les milieux ordinaires. Par la méthode de Truche, elle dépasse trois mois.

CARACTÈRES CULTURAUX : Le caractère des cultures est la pro-



R. Prévot del.

PL. III. — *Streptococcus Anaerobius*.

FIG. 1, souche Y. E..., $0\ \mu\ 8-0\ \mu\ 9$ (dans le secteur, Y. E., dans les sérosités); FIG. 2, souche Mo..., $0\ \mu\ 8$ (dans le secteur, Mo, dans les sérosités; A, colonie atypique). (Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.)

duction de gaz dans tous les milieux avec légère odeur fétide.

Bouillon Martin. — La culture ressemb'e à celle des Strepto-

coques pyogènes facultatifs; rapide, en grumeaux, en paillettes, ne troublant pas le milieu. Elle se dépose en vingt-quatre heures. Le milieu est légèrement acidifié. Le dégagement gazeux est faible; l'odeur fétide légère.

Bouillon Martin glucosé. — Croissance analogue, mais très abondante, avec dégagement gazeux important, fétide, inflammable, ne contenant pas d'acide sulfhydrique. L'acidification est très marquée.

Gélose de Veillon. — Les colonies apparaissent en vingt-quatre heures, atteignant 1 millimètre à 2 millimètres en quarante-huit heures. Elles sont très régulières, lenticulaires, avec toutes les formes composées. La gélose est le siège d'un dégagement gazeux plus ou moins abondant, tantôt quelques bulles de gaz, tantôt une solution de continuité. La gélose est légèrement acidifiée.

Eau peptonée. — Croissance abondante en grumeaux typiques, avec production de gaz très nette. Le milieu n'est pas acidifié, il n'y a pas production d'indol, ni d'H²S.

C'est donc une espèce très peptolytique, et les gaz dégagés dans les milieux peptiques résultent de la destruction de la peptone. C'est le meilleur caractère de l'espèce, et c'est surtout par là qu'elle se différencie de *Str. Putridus* qui ne donne pas de gaz à partir de la peptone.

Bouillon Weinberg-Goy. — Culture très abondante, très gazeuse, très fétide.

Milieux protéiques. — Il n'attaque aucune protéine chauffée (blanc d'œuf, viande, foie, fibrine, sérum coagulé). Il n'acidifie pas le lait, ne le coagule pas; il ne liquéfie pas la gélatine.

Milieux bioprotéiques. — Par contre, il fait subir à la fibrine fraîche et aux organes frais une désagrégation partielle, avec noircissement des organes, dégagement de gaz abondant et odeur très fétide dus en partie à la présence d'H²S.

Le bouillon sérum est également un milieu où le dégagement gazeux et l'odeur fétide sont nets et abondants.

Bouillon rouge neutre. — Il est viré au jaune fluorescent.

Glucides. — L'action a été différente avec les souches *Ye* et *Mo*.

Ye acidifiait glucose, lévulose, maltose, saccharose.

Mo acidifiait glucose, maltose et mannite. Tous les autres

glucides, arabinose, dulcité, glycérine, inuline et amidon restent alcalins avec les deux souches.

Note : Natvig avait vu que ses souches poussaient dans les filtrats des streptocoques pyogènes (inverse du signe de Marmorek).

Nous avons vérifié ce fait : nos deux souches poussaient bien dans les filtrats des cultures de quinze jours de streptocoques facultatifs. Réciproquement, deux souches de streptocoques facultatifs poussent très bien dans le filtrat d'une culture de quinze jours de la souche *Ye*.

POUVOIR PATHOGÈNE. — Natvig n'avait pu provoquer aucune lésion appréciable avec ses souches. Voici le résultat de notre expérimentation :

La souche Ye peut provoquer en culture pure, à la dose de 5 cent. cubes, un œdème douloureux qui se résorbe en quelques jours.

En association (bacille histolytique) elle peut provoquer, si le processus primaire est lent, une crépitation gazeuse. En quarante-huit heures le phlegmon tue l'animal : à l'autopsie, légère odeur fétide.

La souche Mo a été notre seule souche possédant un pouvoir infectieux primaire marqué. A la dose de 5 cent. cubes elle tuait le cobaye en vingt-quatre heures : à l'autopsie on trouve un gros œdème rouge gélatineux, dans la sérosité duquel on retrouve le streptocoque pur, mais ni gaz, ni fétidité.

Pendant qu'elle était pathogène, cette souche sécrétait une toxine qui tuait le cobaye à la dose de 5 cent. cubes en provoquant le même œdème gélatineux rosé, cette fois absolument stérile.

En association, elle provoquait comme *Ye* un phlegmon crépitant, légèrement fétide.

Toxine, Hémolysine. — Comme nous l'avons vu, la souche *Mo* sécrétait une toxine dans les quelques jours qui suivirent l'isolement. Puis elle est devenue atoxigène. Ni l'une, ni l'autre de ces souches ne sécrétait d'hémolysine.

TESTS D'AGGLUTINATION. — Le sérum anti-*Ye* agglutinait la souche homologue au 1/25.000°, et la souche *Mo* au 1/5.000°. Il

n'agglutinait pas les souches *G.* et *Bah* de *M. Fœtidus*. Par contre, il agglutinait faiblement les trois souches de *Str. Putridus*.

POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — Si l'on veut ne retenir comme souches de *Str. Anaerobius* que celles qui poussent sans troubler le bouillon, en donnant des gaz fétides dans tous les milieux, en particulier en eau peptonée, le streptocoque de Krönig-Natvig devient une espèce autonome; elle se distingue alors de *M. Fœtidus* par sa morphologie de streptocoque typique; et de *Str. Putridus* en ce que celui-ci trouble le bouillon, et ne donne pas de gaz dans les milieux ordinaires. Néanmoins, ces deux dernières espèces sont très voisines comme le prouvent les coagglutinations.

III. — *Streptococcus Putridus* (Schottmüller, 1910).

Nous en avons trouvé trois souches; l'une *Ble*, dans les lochies fétides d'un cas de physométrie, était absolument typique. Les deux autres : *Ver* (fièvre puerpérale) et *Vi* (avortement fébrile) étaient un peu atypiques en ce sens qu'elles donnaient parfois un peu de gaz dans les milieux chauffés très riches (bouillon W.-G.).

L'étude de ces souches nous a montré comment on pouvait regarder *Str. Putridus* comme une espèce distincte de *Str. Anaerobius*.

MORPHOLOGIE. — Streptocoque Gram positif; mesurant $0\mu,8$ de diamètre; en courtes chaînes dans les sérosités et les milieux alcalins; en très longues chaînes dans les bouillons neutres (pl. IV).

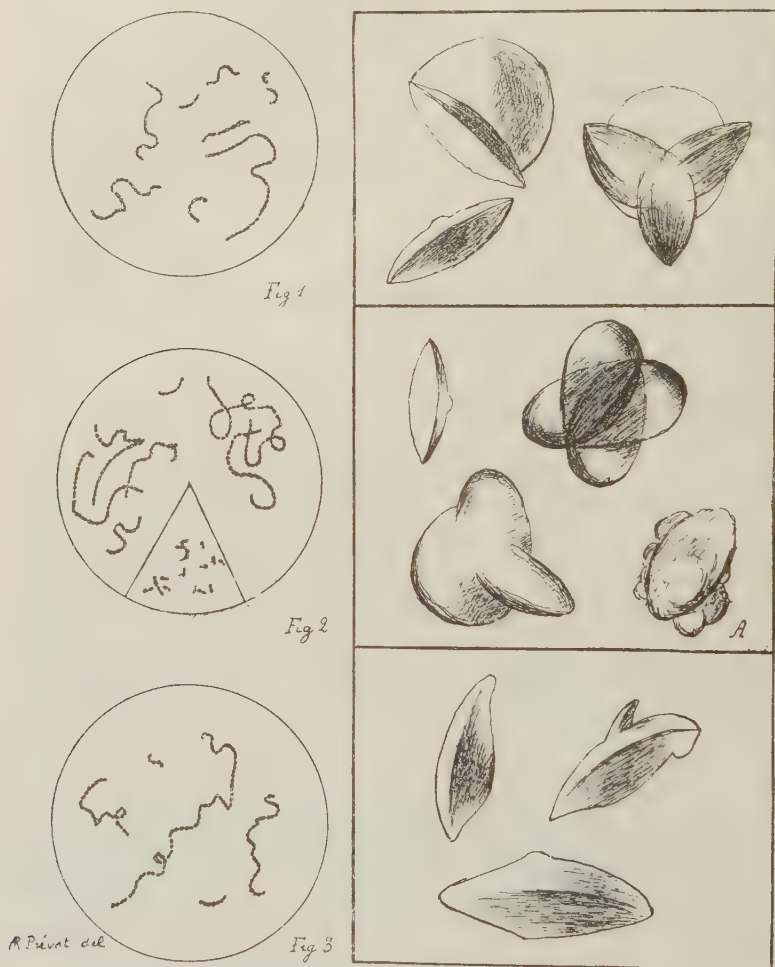
PHYSIOLOGIE. — Anaérobie strict et durable, ne poussant bien qu'à 37°, tué par un chauffage de dix minutes à 80°.

La longévité est de quatre à six semaines dans les milieux ordinaires; par la méthode de Truche elle atteint trois mois.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Le caractère des cultures est la

putridité, et l'absence de gaz en milieux ordinaires ; la présence de gaz et d'H₂S dans les milieux bioprotéiques.

Bouillon Martin. — En six à huit heures apparaît un trouble



PL. IV. — *Streptococcus Putridus*.

FIG. 1, souche Ble..., 0 μ 8; FIG. 2, souche Ver..., 0 μ 7-0 μ 8 (dans le secteur, Ver..., dans les sérosités, A, colonie atypique); FIG. 3, souche Vi..., 0 μ 8-0 μ 9. (Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.)

homogène, qui ne se dépose pas complètement. Pas de gaz, peu d'odeur.

Bouillon Martin glucosé. — Culture abondante et rapide, en trouble homogène, se déposant parfois en zooglées visqueuses inconsistantes. Pas de dégagement gazeux ; odeur putride légère ; présence de pigment noir dans le dépôt microbien.

Bouillon W.-G. — Culture très abondante, d'odeur putride bien marquée, se déposant incomplètement.

Eau peptonée. — Il y pousse à peine, n'y donnant ni gaz, ni odeur.

Gélose Veillon. — En vingt-quatre heures apparaissent des colonies lenticulaires, qui atteignent leur développement en quarante-huit à soixante-douze heures (1 millimètre à 2 millimètres). Elles présentent les modalités habituelles du système lenticulaire, et parfois la déformation en citron et en parallélogramme (pierre à aiguiser de Schottmüller). Jamais de dégagement gazeux.

Milieux protéiques. — Il n'attaque aucune protéine chauffée (blanc d'œuf coagulé ; sérum coagulé, viande, foie, fibrine). Il n'acidifie pas et ne coagule pas le lait ; il ne liquéfie pas la gélatine. (Une souche active : *Vi*, d'ailleurs un peu atypique, faisait subir au lait, sans le coaguler, un début de digestion avec légère acidification.)

Milieux bioprotéiques. — C'est afin de vérifier les propriétés « fermentaires élevées » prévues par Schottmüller, et impossibles à mettre en évidence avec les protéines chauffées, que nous avons employé les milieux bioprotéiques (1), dont le type est le bouillon au sang frais employé par Schottmüller.

Bouillon au sang frais. — Dégagement abondant de gaz, contenant H²S en grande quantité. Noircissement rapide du sang, qui prend l'odeur putride typique.

Gélose profonde au sang. — La gélose est brisée par les gaz (H²S).

Bouillon avec fibrine fraîche. — La fibrine est désagrégée et partiellement digérée.

Organes frais de cobaye ou de lapin. — La culture est rapide,

(1) Outre les propriétés bioprotéolytiques des streptocoques fétides, ces milieux nous ont révélé d'autres faits intéressants, en particulier le retour à la morphologie *in vivo* (forme diplocoque et courte chaîne), le retour à la physiologie *in vivo* (récupération d'un pouvoir pathogène perdu dans les milieux chauffés, acquisition d'un pouvoir pathogène d'opportunisme).

provoquant un dégagement abondant de gaz putrides, renfermant H^2S en grande quantité.

Les organes prennent rapidement l'aspect putréfié, verdissent, puis noircissent. En même temps ils sont désagrégés, probablement par la fonte des tissus élastiques et cellulaires comme l'avait observé Schottmüller *in vivo*.

Milieux différentiels. — Le rouge neutre est viré au jaune fluorescent. Les milieux au plomb sont noircis proportionnellement à la richesse du milieu.

Glucides. — Nous avons trouvé quelques différences de souche à souche, mais l'action est dans l'ensemble celle qui a été indiquée par Ozaki; le glucose, le lévulose et le maltose sont acidifiés, le saccharose et la mannite le sont inconstamment.

POUVOIR PATHOGÈNE. — Schottmüller n'a pas pu mettre en évidence le pouvoir pathogène expérimental de ses souches. Par contre Marwedel et Wehrsig reproduisent avec leur souche pure une gangrène gazeuse foudroyante chez le cobaye (œdème gélatineux hémorragique, avec phlyctènes et septicémie).

Voici nos résultats :

La souche Ble, peu pathogène, ne provoque après passage dans les milieux bioprotéiques qu'un œdème thoraco-abdominal qui guérit spontanément.

La souche Ver. — En association avec la toxine du Vibrion septique elle provoque un phlegmon crépitant légèrement fétide.

En association avec le bacille histolytique, elle ajoute la formation de gaz fétides aux lésions d'histolyse dues au bacille.

Alors qu'à l'état pur dans les milieux ordinaires elle ne provoquait que des lésions insignifiantes, par le passage dans les milieux bioprotéiques on obtient des lésions mortelles : phlegmon crépitant, légèrement fétide, avec œdème, tuant l'animal en quarante-huit heures.

Les passages en série sur les milieux bioprotéiques augmentent la virulence et la toxicité de la souche, alors que le passage sur l'animal n'entretient pas la virulence.

La souche Vi. — Moins active, n'a donné qu'un phlegmon crépitant, guérissant en cinq jours.

Toxine, Hémolysine. — Nous n'avons trouvé ni toxine, ni hémolysine dans les cultures de nos souches.

TESTS SÉROLOGIQUES. — Le sérum anti-*Ble* agglutinait la souche homologue au $1/5.000^{\circ}$, la souche *Ver* au $1/1.000^{\circ}$, la souche *Vi* au $1/5.000^{\circ}$. Il agglutinait également, mais de façon douteuse, la souche *Ye* de *Str. Anaerobius* au $1/100^{\circ}$, mais n'agglutinait aucune autre souche de nos streptocoques.

POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — Nous pensons que *Str. Putridus* constitue une espèce autonome, différente de *Str. Anaerobius*, et fondons cette autonomie sur les différences culturelles et les tests d'agglutination.

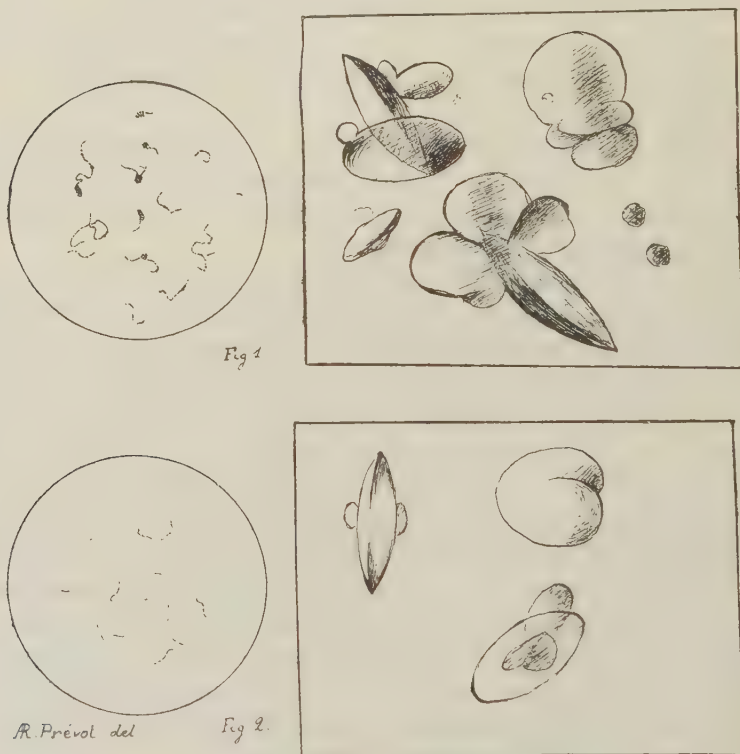
Nous n'avons pas pu confirmer ces premières données par les épreuves croisées des sérums anti-infectieux. L'obtention des sérums thérapeutiques pour ces bactéries est un problème extrêmement délicat, pour lequel de nouvelles souches pathogènes doivent être recherchées. Ce sera l'objet de nos recherches ultérieures. En l'absence de ce critère, si on nous permet d'employer pour les bactéries le langage botanique, nous considérons *Str. Anaerobius* et *Str. Putridus* comme deux espèces linnéennes distinctes, mais voisines, et entre ces deux espèces existent des souches atypiques qui se présentent comme des variétés jordaniennes de l'une ou de l'autre. Le streptocoque de Silberschmidt se présente comme une variété jordanienne (à petits grains) de *Str. Anaerobius* : les souches d'Ozaki, de Marwedel et Wehrsig, nos souches *Ver* et *Vi*, se présentent comme des variétés jordaniennes de *Str. Putridus*.

Il est probable que l'étude approfondie de ces deux espèces montrerait la fréquence de ces variétés pour lesquelles il n'est pas nécessaire de créer de vocables nouveaux, car il est facile de les déterminer par les caractères dominants qui les rapprochent de l'une ou de l'autre.

B. — Groupe des streptocoques ni gazeux, ni fétides.

I. — *Str. Micros.* (Lewkow. 1904).

Nous avons trouvé deux souches répondant à cette espèce,



PL. V. — *Streptococcus Micros.*

FIG. 1, souche Pem..., $0\ \mu\ 3-0\ \mu\ 4$; FIG. 2, souche Lal..., $0\ \mu\ 25$.
(Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.)

l'une, *Pem* dans une gangrène pulmonaire, l'autre *Lal* dans les lochies d'une infection puerpérale. Nous avons ainsi pu compléter la description de Lewkowicz.

MORPHOLOGIE. — Streptocoque extrêmement fin ; $0\ \mu\ 25$ à

0 μ 4, Gram positif, en longues chaînes dans les bouillons neutres (pl. V).

PHYSIOLOGIE. — C'est un streptocoque dont l'anaérobiose est stricte et durable, ne poussant bien qu'à 37°; il est tué par un chauffage d'un quart d'heure à 60°; il vit six semaines dans les milieux ordinaires; par la méthode de Truche on peut le conserver trois mois.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Il ne donne ni gaz, ni odeur dans les cultures et pousse d'abord très lentement, en cinq jours. Peu à peu il s'acclimate aux milieux et pousse en quarante-huit heures.

Bouillon Martin. — Il donne une culture pauvre, constituée par un léger trouble pulvérulent, se déposant lentement.

Bouillon Martin glucosé. — La culture est plus abondante, en trouble homogène. Le milieu est acidifié.

Gélose de Veillon. — Les colonies apparaissent en deux ou trois jours au-dessous d'une zone stérile de 2 ou 3 centimètres. Elles sont d'abord punctiformes, puis lenticulaires, et il y en a qui deviennent très grosses (2 à 3 millimètres) alors que la plupart mesurent 0 mm. 5 ou 1 millimètre. Elles ont une tendance à donner des processus multiples, mais toujours du type lenticulaire. Elles dégénèrent rapidement, se hérissant de fines arborescences.

Eau peptonée. — La culture se manifeste par l'apparition d'une fine poussière, se déposant rapidement. Le milieu n'est pas acidifié.

Bouillon W.-G. — Il y pousse très vite, y donnant un sédiment abondant.

Milieux protéiques. — *Str. Micros* n'attaque aucune protéine, ni chauffée, ni fraîche.

Il pousse mal dans le *lait*, ne l'acidifiant pas, ne le coagulant pas.

Il pousse mal en *gélatine*, sans la liquéfier.

Il vire le *rouge neutre*.

Glucides. — Les hexoses (glucose, lévulose, galactose) favorisent sa croissance, et sont acidifiés énergiquement. De même pour 2 hexobioses : saccharose et maltose, tandis qu'au contraire, il pousse mal en eau peptonée lactosée, et le milieu

reste alcalin. Les autres glucides : arabinose, glycérine, mannite, dulcité, inuline et amidon paraissent favoriser sa croissance, mais restent alcalins.

POUVOIR PATHOGÈNE. — Lewkowicz n'avait pas pu provoquer de lésions avec ses souches, sauf parfois de petits abcès à pus stérile.

La souche *Pem* provoquait chez le cobaye de petits abcès sous-cutanés à pus grumeleux guérissant spontanément. La souche *Lal* n'était pathogène que pour la souris, à qui elle donnait de petits abcès sous-cutanés renfermant le streptocoque à l'état pur.

Il faut donc considérer *Str. Micros.* comme un saprophyte, éventuellement comme un pyogène. Il ne sécrète ni toxine, ni hémolysine.

Tests sérologiques. — Le sérum anti-*Pem* agglutinait la souche homologue au 1/400^e et la souche *Lal* au 1/250^e. Il n'agglutinait aucune des autres souches de notre collection, sauf les souches *A* et *Ras* de *Str. Intermedius* au 1/50^e.

POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — Cette espèce est bien individualisée par la petitesse de ses grains, l'absence de gaz et d'odeur dans les cultures ; le pouvoir peptolytique et saccharolytique, l'absence de pouvoir protéolytique et hémolytique : enfin les épreuves d'agglutination le distinguent facilement des autres espèces en le rapprochant un peu de *Str. Intermedius*.

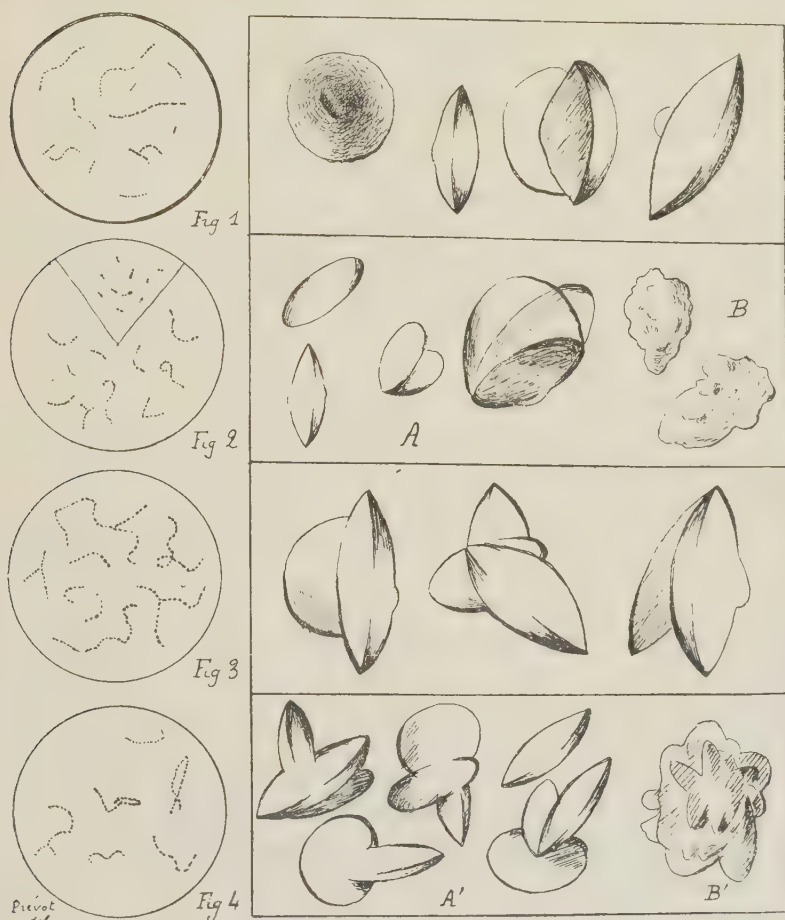
*
* *

Telles sont les quatre espèces de streptocoques strictement anaérobies qui ont été décrites par les auteurs, et que nous avons pu étudier. Au cours de ces recherches, nous avons isolé 4 souches : *A*, *C*, *Ras* et *Par*, ne répondant à aucune de ces espèces, et ne différant entre elles que par de très légères variations.

Aussi, avons-nous pensé que les espèces antérieures ne représentaient pas la totalité des faits, et avons-nous proposé une nouvelle espèce :

II. — *Str. Intermedius* (nov. spec.).

Il est à noter que les 4 souches viennent toutes d'affections respiratoires (gangrène pulmonaire et dilatation bronchique).



PL. VI. — *Streptococcus Intermedius* (nov. sp.).

FIG. 1, souche C, $0\mu 5-0\mu 6$; FIG. 2, souche A, $0\mu 5$ [dans le secteur, forme *in vivo*] (A, forme typique; B, forme aberrante); FIG. 3, souche Ras., $0\mu 7$; FIG. 4, souche Par..., $0\mu 5-0\mu 6$ (A', forme typique; B', forme aberrante) [Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.]

MORPHOLOGIE. — Streptocoque moyen, de $0\mu 6$ de diamètre, Gram positif, en diplocoques dans les crachats, en longues

chaînes, très ondulées, parfois bifurquées en Y, dans le bouillon neutre (pl. VI).

PHYSIOLOGIE. — C'est un anaérobie strict dont l'anaérobiose est constante et durable. La température optima est 37°; il pousse mal à 26°, pas du tout au-dessous de 22°. Il est tué par un chauffage d'une demi-heure à 60°.

Sa longévité paraît plus brève que celle des autres espèces. Une de nos souches est morte en trois semaines, les autres ne végètent pas plus de six semaines. Par la méthode de Truche nous avons pu les garder deux mois.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Il ne donne ni gaz, ni odeur dans les cultures. Il pousse facilement dès la première génération.

Bouillon Martin. — Culture rapide en trouble homogène, se déposant lentement.

Bouillon Martin glucosé. — Culture exubérante, donnant un dépôt abondant; la souche A donnait, de façon irrégulière, une zooglee visqueuse inconsistante; le milieu est très acidifié.

Gélose Veillon. — Les colonies apparaissent en vingt-quatre heures et atteignent 1 à 2 millimètres en quarante-huit heures. Elles sont régulières, du type lenticulaire, parfois très compliquées et très élégantes. Les souches A et Ras donnaient, de façon atypique, des colonies bourgeonnantes dans le fond des tubes.

En eau peptonée. — On obtient une culture discrète, un peu pulvérulente.

Milieux protéiques. — Il n'attaque aucune protéine.

Lait. — Il coagule le lait en vingt-quatre heures, en masse, sans rétraction du caillot, sans digestion ultérieure. Le milieu est très acidifié.

Bouillon sérum. — Culture rapide. Quand la proportion du sérum est de 1 pour 2, il y a coagulation en masse du sérum par acidification.

Gélatine. — Il pousse peu en gélatine, sans la modifier.

Bouillon rouge neutre. — Viré au jaune fluorescent.

Glucides. — Les hexoses : glucose, lévulose, galactose, sont fortement acidifiés. De même les hexobioses : maltose et lactose. Le saccharose n'était acidifié fortement que par la

souche *A*, faiblement par *C* et *Ras*, pas du tout par la souche *Par*.

Tous les autres glucides étudiés : arabinose, glycérine, mannite, dulcité, inuline et amidon, restent neutres.

POUVOIR PATHOGÈNE. — C'est un pyogène, provoquant chez le cobaye et la souris de petits abcès à pus grumeleux, pouvant parfois tuer l'animal en quarante-huit heures. Il ne sécrète ni toxine, ni hémolysine.

TESTS SÉROLOGIQUES. — Deux sérums antimicrobiens ont été préparés avec les souches *A* et *Ras*. Le sérum anti-*A* agglutinait la souche homologue au 1/1.000°, la souche *Par* au 1/800°, la souche *Ras* au 1/400° (et la souche *Pem* de *Str. Micros* au 1/30°).

Le sérum anti-*Ras* agglutinait la souche homologue au 1/800°, les souches *Par* et *A* au 1/400°. Ces sérums n'agglutinaient aucune de nos autres souches.

Enfin, nos quatre souches poussaient dans les filtrats des streptocoques facultatifs (cultures de huit jours filtrées, réensemencées et refiltrées).

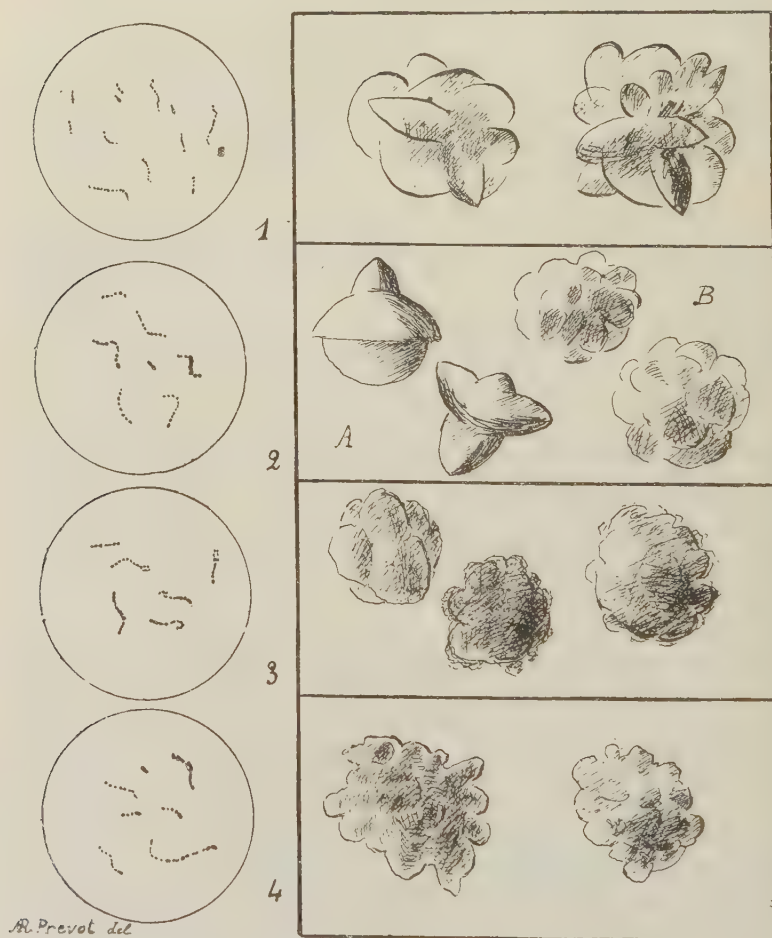
POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — *Str. Intermedius* est une espèce bien différente des espèces fétides. Elle diffère de *Str. Micros* par sa taille plus grande, la coagulation du lait et du sérum, la forte acidification des milieux. Par la production de colonies aberrantes du type bourgeonnant, par la coagulation du lait, elle se rapproche de *Str. Evolutus*, mais celui-ci est un anaérobie de prédilection et liquéfie la gélatine.

N'était l'anaérobiose stricte, elle se rapprocherait de la souche *K* de Gräf et Wittneben et, d'une façon générale, des streptocoques facultatifs. C'est à cause de ces analogies que nous l'avons appelée *Str. Intermedius*.

2. — Les streptocoques anaérobies de prédilection.

Parmi les streptocoques anaérobies de prédilection, dont la fréquence est grande, il en est un qui doit retenir notre

attention, parce qu'il présente, avant sa phase de facultatisme, une phase d'anaérobiose stricte de durée plus ou moins longue;



PL. VII. — *Streptococcus Evolutus*.

FIG. 1, souche Gold., $0\ \mu\ 6$ (colonies en rosettes de lentilles); FIG. 2, souche Pl., $0\ \mu\ 7$ (A, type lenticulaire; B, type irrégulier); FIG. 3, souche Ja, $0\ \mu\ 6-0\ \mu\ 7$; FIG. 4, souche PF., $0\ \mu\ 7$. (Grossissement : microbes, 700 diamètres; colonies, 15 diamètres.)

c'est l'espèce qui correspond à la souche *Schwarzenbeck* de Gräf et Witteben, et que nous avons appelée, afin de ne pas

consacrer les erreurs qui règnent à son sujet, *Streptococcus Evolutus* (G. et W., 1907). Nous en avons retrouvé 14 souches, dont 11 dans les affections pulmonaires.

MORPHOLOGIE. — C'est un streptocoque très polymorphe d'environ $0\ \mu\ 7$ de diamètre, Gram positif, en longues chaînes dans les bouillons neutres (pl. VII).

PHYSIOLOGIE. — Il se présente à son isolement comme un anaérobie strict, et reste tel pendant les premières cultures. Puis il s'adapte à la vie facultative, tout en restant un anaérobie de prédilection dont les cultures, en présence de l'air, restent pauvres et difficiles à observer.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Dans les bouillons peptiques et en eau peptonée, il pousse à la manière de *Str. Pyogenes* : rapidement, en grumeaux, sans troubler le milieu.

Gélose de Veillon. — Il colonise parfois, tout au moins pendant sa phase d'anaérobiose stricte, suivant la forme lenticulaire, que nous appellerons la forme pré-évolutive, avec le schéma classique de l'anaérobiose : zone supérieure stérile de 4 centimètre environ. Puis, au cours des repiquages, parfois dès la deuxième génération, on voit apparaître, dans la zone primitivement stérile, un anneau de colonies situé environ à mi-distance entre la zone fertile profonde et la surface supérieure de la gélose. C'est le phénomène que nous avons appelé des « zones alternantes », déjà vu par Rist d'abord, ensuite par Reiner Müller, enfin par Gräf et Wittneben (pl. VIII).

Dès lors, le streptocoque peut pousser (pauvrement il est vrai) en présence de l'air. Ce signe est accompagné d'autres signes évolutifs : changement de forme du coccus, qui s'allonge ; changement de forme des colonies qui deviennent bourgeonnantes et irrégulières, voire ouatées : c'est la forme évoluée.



PL. VIII.
Phénomène
des zones
alternantes.

Milieux protéiques. — Le lait est coagulé en vingt-quatre heures, avec rétraction du caillot. Avec certaines souches actives, on voit même un commencement de digestion du caillot, qui se fragmente et devient grumeleux.

La gélatine est liquéfiée; mais nous n'avons pas pu mettre en relief d'autres protéolyses.

Glucides. — Les hexoses et les hexobiotes (glucose, lévulose, galactose, saccharose, lactose, maltose) sont fortement acidifiés. Les autres glucides ne sont pas acidifiés.

POUVOIR PATHOGÈNE. — Beaucoup de nos souches étaient complètement dépourvues de pouvoir pathogène: quelques-unes provoquaient sous la peau du cobaye et de la souris des tuméfactions qui se collectaient parfois en quelques gouttes de pus grumeleux.

Il faut donc considérer *Str. Evolutus* comme un pyogène.

TESTS SÉROLOGIQUES. — L'agglutination est peu aisée à rechercher. Mais un sérum préparé avec une de nos souches flocculait les filtrats de nos autres souches à des taux variant entre 1/10° et 1/100°. Il ne flocculait pas les streptocoques anaérobies stricts.

POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE. — Par son évolution vers le facultatisme, *Str. Evolutus* se distingue d'emblée des streptocoques strictement anaérobies. Il se rapproche beaucoup plus des streptocoques facultatifs.

Cette évolution, qui est une différenciation, nous aide à comprendre la situation des espèces strictes vis-à-vis des facultatives. Tout en restant sur le terrain de l'expérience, nous sommes amené à considérer les streptocoques anaérobies stricts comme un groupe primitif, et certains streptocoques facultatifs comme des formes secondaires dérivant des premiers par évolution (la différenciation étant surtout physiologique: possibilité de croître en présence d'oxygène).

Classification.

L'ordre dans lequel nous avons décrit ces streptocoques est la base de notre classification, qui a ainsi l'avantage de grouper, à côté des analogies morphologiques, les analogies physiologiques (caractères culturels, pouvoir pathogène, tests sérologiques).

Le premier groupe comprend de gros streptocoques, fétides et gazogènes, gangrénogènes.

Le deuxième groupe comprend de fins streptocoques, ni fétides, ni gazogènes, mais pyogènes.

Le troisième groupe comprend les anaérobies de prédilection, dont la seule espèce pouvant être étudiée ici est un streptocoque moyen, non gazogène, non fétide, pyogène, évoluant vers le facultatisme.

Tous ces streptocoques vivent en saprophytes dans les cavités naturelles, et peuvent devenir pathogènes par opportunisme.

Conclusions.

Les streptocoques anaérobies sont des bactéries extrêmement communes qu'on trouve à l'état saprophytique dans les cavités naturelles, et à l'état parasitaire dans les syndromes gangréneux et fétides, qui les reconnaissent comme agents primaires ou secondaires (gangrènes pulmonaires, génitales, appendiculaires, etc., suppurations fétides).

Ne doivent être considérées à ce jour comme strictement anaérobies que les seules espèces : *M. Fœtidus* (Veillon), *Str. Anaerobius* (Krönig, rev. Natvig), *Str. Putridus* (Schottmüller); *Str. Micros* (Lewkowicz), *Str. Intermedius* (n. sp.) et comme anaérobie de prédilection (par évolution) *Str. Evolutus* (Gräf et Wittneben).

M. Fœtidus est un gros streptocoque en très courtes chaînettes, présentant une direction accessoire de division, poussant en grumeaux sans troubler le bouillon, donnant des gaz fétides dans tous les milieux (surtout riches), de l'acide sulfhydrique dans les milieux bioprotéiques, et capable de provoquer

expérimentalement des gangrènes (accessoirement des suppurations).

Str. Anaerobius est un gros streptocoque en longues chaînettes dans les bouillons neutres, poussant en grumeaux sans troubler le bouillon, donnant des gaz dans tous les milieux, de l'acide sulfhydrique dans les milieux bioprotéiques, provoquant expérimentalement des phlegmons crépitants avec œdème rosé, ou des infections secondaires légèrement fétides.

Str. Putridus est un gros streptocoque en longues chaînes dans les bouillons neutres, troublant le bouillon, ne donnant pas de gaz dans les milieux ordinaires, mais seulement dans les milieux bioprotéiques, où il dégage une grande quantité d'acide sulfhydrique, provoquant expérimentalement des phlegmons crépitants légèrement fétides, ou des infections secondaires fétides.

Il existe entre ces deux dernières espèces des variétés aberrantes très fréquentes, qui se laissent facilement rattacher à l'une ou à l'autre, par leur caractère dominant.

Ces trois espèces sont, à des degrés différents, les agents de la fermentation sulfhydrique des tissus lésés privés de leurs défenses naturelles; et, du point de vue de la pathogénie, des opportunistes et des envahisseurs dont la présence commande la fétidité de l'infection; leur pouvoir infectieux expérimental se manifeste difficilement dans les milieux ordinaires, plus facilement dans les milieux bioprotéiques.

Str. Micros est un très fin streptocoque peptolytique et saccharolytique, ne coagulant pas le lait, pouvant être occasionnellement pyogène.

Str. Intermedius est un streptocoque moyen, peptolytique, saccharolytique, coagulant le lait, pyogène.

Str. Evolutus, d'abord anaérobie strict, évolue vers l'anaérobiose facultative, conservant une prédilection pour la vie sans air. Le signe principal de cette évolution est le phénomène des zones alternantes. Il coagule le lait avec rétraction du caillot, liquéfie la gélatine; il est saccharolytique. C'est un pyogène.

Cette dernière espèce permet de rattacher les streptocoques facultatifs aux streptocoques strictement anaérobies, ceux-ci pouvant être alors considérés comme les formes primitives des premiers.

EXPÉRIENCES SUR LA CONSERVATION DU VIRUS PESTIQUE DANS LES PEAUX VERTES

par H. SCHEIN et M. JACOTOT.

Institut Pasteur de Nhatrang.

Une prohibition absolue s'oppose à l'entrée en France des peaux, autres que desséchées, provenant des pays dans lesquels on soupçonne la peste bovine.

Il en résulte un grand préjudice pour les tanneries françaises. Sur la proposition de M. Calmette, transmise par M. Abt, nous venons de faire sur ce sujet une longue série d'expériences.

Pour rester brefs et éviter des redites, nous exposerons en détail les techniques employées et les observations générales relevées au cours de nos expériences; seules les constatations particulières seront ensuite relevées à l'occasion de l'expérience qui a permis de les effectuer.

Nos essais ont duré plus longtemps que nous ne comptions; nous avons dû les reprendre, pour plus de rigueur, les témoins des premiers nous ayant révélé l'incertitude des moyens de contamination employés; mais, à présent, nous nous croyons suffisamment armés pour apporter une conclusion ferme :

« Etant donné le temps nécessaire à la préparation des cuirs salés verts, avant que leur expédition soit possible, ils ne sauraient être dangereux au moment de leur entrée en France ».

Voici la technique employée pour le salage des peaux, conformément aux indications que nous avait données M. Abt :

« On étale la peau, chair en dessus; on répand du sel, en
« couche régulière, un peu plus épaisse dans les parties fortes;
« on roule légèrement la peau sur tout le pourtour, pour
« réduire l'écoulement du sang; on replie longitudinalement
« chaque moitié vers la ligne médiane, puis l'un sur l'autre les

« deux plis ainsi formés, et on roule de la tête vers la queue. »

Le salage se fait en deux temps, à vingt-quatre heures d'intervalle; le premier jour, on répand 15 p. 100 du poids de la peau; le second jour, 10 p. 100. Après chaque temps, la peau roulée est enveloppée d'une toile, et mise à l'ombre et au frais, surchargée ou non de poids. Dans les jours suivants, de la saumure s'écoule, mais les peaux conservent une certaine humidité; après quatre à cinq jours, il reste un excès de sel non dissous.

Nous avons suivi cette technique de préparation et, après quatre, ou trois jours de salage seulement, essayé de contaminer nos sujets d'expériences, par divers procédés.

La réceptivité de nos sujets ne fait aucun doute pour nous : d'abord, les animaux employés provenaient de notre réserve générale de veaux pour passages de virus pestique, parmi laquelle nous inoculons de dix à vingt animaux par semaine, avec une mortalité moyenne de 90 p. 100. De plus, quand un sujet n'avait pas réagi à une contamination expérimentale, une réinoculation d'épreuve, avec du virus ordinaire, nous assurait qu'il n'était pas naturellement réfractaire à la maladie.

La virulence des tumeurs des animaux dont provenaient les dépouilles nous était connue par l'inoculation de leur sang aux animaux qui nous servent à cultiver le virus pestique *in vivo*; ils étaient toujours sacrifiés du huitième au dixième jour après l'inoculation, au moment où le virus est à son maximum d'activité et sacrifiés par assommement, sans effusion de sang, de façon à laisser dans les peaux le plus possible de liquide sanguin, donc d'agents virulents.

Ces conditions de réceptivité des sujets d'expériences, et de virulence des cuirs mis à l'essai, sont les plus sévères qu'on puisse réaliser, et ne se trouveraient que bien rarement réunies dans la pratique.

Nous nous sommes assurés de l'efficacité des modes de contamination employés en essayant la virulence des peaux provenant d'animaux fraîchement tués.

Tous nos essais ont été faits à une température moyenne de 27°5.

PRODUITS EMPLOYÉS ET PROCÉDÉS DE CONTAMINATION.

Nous nous sommes servi : 1° de la peau entière hachée (soit fraîche, soit après salage, soit souillée, soit lavée); 2° de l'extrait de peau fraîche ou après salage, extrait filtré ou non, dans chacun de ces deux cas.

Nous avons mis ce matériel en œuvre par divers procédés : 1° inoculations : injection sous-cutanée, injection intrapéritonéale, injection intraveineuse; 2° scarifications de la peau du sujet, et mouchetures de la muqueuse buccale; 3° ingestion seule ou associée aux mouchetures buccales; 4° écouvillonnage des cavités nasales.

Ces produits et ces procédés nous ont donné divers mécomptes qui nous ont obligés à multiplier les expériences avant d'arriver à un protocole nous donnant satisfaction.

L'extrait de peau se préparait ainsi : on prélevait un fragment de peau de la grandeur de la main, on le hachait finement; le hachis, broyé au mortier avec de l'eau physiologique (environ 50 cent. cubes), et le liquide en résultant, filtré grossièrement sur mousseline, étaient d'abord utilisés tel quel; au début, nous avons utilisé la peau munie de son peaussier, souillée de déjections. Mais, d'une part, l'ingestion et la scarification se montrèrent procédés de contamination incertains, même avec des peaux fraîches, et, d'autre part, inoculé, l'extrait de peau souillée donna des infections banales, parfois mortelles, qui empêchaient de tirer une conclusion ferme des essais entrepris.

Nous essayâmes alors la filtration de l'extrait de peau. Mais le virus pestique ne passe pas très régulièrement à travers les filtres de porosité parfois assez variable. Nous avons divisé en trois parties le liquide à filtrer; filtré chacune des parties avec une bougie Chamberland F différente; réuni les filtrats, et inoculé le tout. Mais l'extrait de peau fraîche n'a pas toujours transmis la maladie de cette façon, et même, du liquide de lavage péritonéal virulent, ainsi filtré, injecté à deux veaux, ne leur a pas donné non plus la peste bovine.

Devant l'insuccès de ce procédé, nous renonçâmes à l'emploi des peaux souillées d'excréments. Le virus, d'ailleurs, se con-

serve mal dans ces souillures extérieures desséchées, exposées à la lumière avant le salage, où la présence des microbes banaux ne lui paraît pas favorable. Nous pensâmes alors à laver la peau à l'eau physiologique stérile, sur ses deux faces, après avoir rasé les poils, et gratté la surface. Le liquide obtenu ensuite par broyage au mortier de cette peau préalablement hachée se montra suffisamment pur pour *pouvoir être injecté sous la peau, et même dans le péritoine* des sujets sensibles, sans amener d'infection banale, tout en assurant la transmission de la peste bovine quand il provenait de peau fraîche. Ce procédé de contamination, d'une rigueur absolue, est d'une sévérité qui n'est pas réalisée en pratique.

Les scarifications se sont révélées infidèles à assurer la transmission de la virulence des produits frais; que ce soit l'extrait de peau souillée, filtré ou non, l'extrait non filtré de peau lavée, le sang virulent lui-même, les sécrétions muqueuses, aucun produit ne réussit ainsi de façon certaine. Plusieurs de nos sujets ont même paru vaccinés après de semblables essais.

M. R. Van Saceghem, d'ailleurs, crut trouver là un procédé pratique de vaccination, mais son incertitude le lui a fait abandonner.

L'ingestion ne réussit pas mieux : tout d'abord, les animaux montrent une forte répulsion pour les boissons et les aliments (herbes hachées, son) qu'on a mélangés avec les produits à essayer (extraits de peau, sang); nous avons dû, par suite, laisser nos animaux au jeûne complet de boisson et d'aliments pendant vingt-quatre heures, avant de tenter ces expériences, et les obliger à ingérer les aliments intentionnellement souillés.

Puis, le produit le plus virulent connu dans la peste bovine, le sang lui-même, réussissant mal à réaliser la contagion par ingestion, nous avons mélangé les produits à des plantes dures et épineuses (sensitives), et les avons fait ingérer à des veaux dans la bouche desquels nous avons pratiqué des mouchetures. Malgré tout, le procédé resta infidèle.

Quant aux débris de peaux épars dans les stalles, les animaux s'en éloignaient généralement autant qu'ils le pouvaient; et nous ne réussîmes pas à contaminer sûrement de la sorte.

Finalement, pour plus de certitude, dans la dernière série

d'expériences nous combinâmes tous les modes d'infection, employant l'extrait de peau grattée et lavée, en inoculation sous-cutanée et intrapéritonéale, en scarifications, en ingestions, en écouvillonnage des cavités nasales, réalisant ainsi le maximum de sévérité dans les conditions de l'expérience: *les peaux, déjà après vingt-quatre heures de salage, se sont montrées incapables de transmettre la peste bovine.*

PREMIÈRE SÉRIE : PREMIÈRE EXPÉRIENCE.

Le 6 juin 1923, le veau 96-H, au neuvième jour de l'inoculation en pleine hyperthermie, est tué après saignée. Sa peau est salée.

Le veau 98-H reçoit, *par ingestion, du sang du 96-H* et ne présente rien.

Quatorze jours après 98-B, réinoculé avec 1 cent. cube du sang virulent du 98-L, présente une élévation thermique de signification douteuse et, c'est tout...

Le 98-C reçoit, par scarifications sur la croupe, du sang virulent du 96-H.

Il n'a rien. Réinoculé, quatorze jours après, avec 1 cent. cube de sang du 98-L, il fait une réaction très légère et *guérit.*

Le 98-2 reçoit, sous la peau, le 6 juin, 20 cent. cubes d'extrait filtré de peau fraîche du 96-H: il ne présente rien. Réinoculé quatorze jours après avec 1 cent. cube du sang virulent du même 98-L, il fait une maladie typique.

On le saigne à blanc (pour préparation du sérum) huit jours après. Il présente à l'autopsie les lésions typiques de la maladie.

Le 9 juin, après trois jours de salage, le 98-E reçoit 20 cent. cubes d'extrait filtré du cuir du 96-H.

Rien. Réinoculé 10 jours après, avec 1 cent. cube du sang du 98-L, il présente une réaction nette; on le saigne à blanc pour charger les animaux à sérum et, à l'autopsie, on trouve des lésions nettes de peste bovine.

La chèvre 143 reçut sous la peau 20 cent. cubes d'extrait filtré de cuir salé du 96-H après trois jours de salage également.

Cette chèvre n'eut rien et, réinoculée, prit nettement la

maladie. On la sacrifia, et on trouva des lésions caractéristiques à l'autopsie.

En résumé, l'extrait filtré de peau fraîche, ou après trois et quatre jours de salage, s'est montré avirulent. L'ingestion et la scarification ont donné des résultats douteux ou nuls (même l'ingestion de sang virulent).

PREMIÈRE SÉRIE : DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Le 19 juin 1923, le 98-L est tué huit jours après son inoculation, après avoir présenté une réaction très sérieuse (41°2 le septième jour, 40° le matin du jour de sa mort). Autopsie concluante.

(Le sang du 98-L, pris pour les passages, a donné la maladie mortelle à onze animaux, par inoculation de 1 cent. cube.)

Le 99-B ingéra trois jours de suite du sang du 98-L; il n'eut rien, et, réinoculé du virus actif, il mourut.

Le 99-A fut inoculé par scarifications sur la croupe, avec du sang du 98-L; il n'eut rien de net. Réinoculé avec le même sang actif, il présenta une *forte hyperthermie* (40°7) et guérit.

Le 99-C reçut sous la peau 20 cent. cubes d'extrait filtré de peau fraîche, il n'eut rien, et *succomba à la réinoculation du virus actif.*

La chèvre 146 fut inoculée de même et n'eut rien; la réinoculation lui donna une maladie moyenne, mais avec diarrhée dont elle guérit.

Le 23 juin, le *veau 99-S* reçut 20 cent. cubes d'extrait de peau salée de quatre jours, filtré sur trois bougies; il n'eut rien et mourut de la réinoculation, avec maladie nette et lésions d'autopsie évidentes.

Le 99-U ingéra de la peau salée de quatre jours, mêlée à ses aliments et à sa boisson, sans rien présenter. Il *n'eut rien*, et succomba en neuf jours, après une inoculation de virus actif.

Le 99-T fut inoculé de même, par scarifications, sur la croupe, d'extrait de peau salée de quatre jours. Il présenta une élévation de température irrégulière; *réinoculé, il fit une surélévation thermique nette*, présenta des symptômes cliniques légers (lar-moiement) et se rétablit.

On peut conclure de cette expérience qu'un sang virulent, d'activité prouvée, peut se montrer inactif par ingestion, ou en scarification; que ces procédés, inconstants pour assurer la contamination avec du matériel actif, sont insuffisants pour renseigner sur l'activité de produits mis à l'essai.

PREMIÈRE SÉRIE : TROISIÈME EXPÉRIENCE.

Le fournisseur de virus fut le 99-P (inoculé avec le sang du 98-L précédent).

Il eut une courbe thermique nette, fut utilisé comme fournisseur de virus par lavage péritonéal, pour le chargement des bêtes à sérum, et tué le 9, par assommement.

Le 29 juin, le 110-M ingéra le produit de raclage des lésions buccales et intestinales du 99-F. Il n'eut rien et, réinoculé de sang virulent du 101-B, mourut en quinze jours avec une maladie et des lésions typiques.

Le 100-E fut inoculé par scarifications avec ces mêmes produits. Il présenta une faible et irrégulière élévation thermique, malgré quoi on le réinocula du même virus actif du 101-B (qui a tué le précédent). Il fit encore une hyperthermie marquée, eut de légers symptômes cliniques et guérit.

Le 100-O reçut, sous la peau, 20 cent. cubes d'extrait filtré de peau fraîche du 99-F. Il fit une maladie irrégulière, avec diarrhée le huitième jour, et dysenterie le neuvième. Il succomba le dixième. L'autopsie ne révéla pas de lésions nettes. Cependant, nous penchons plutôt à attribuer la mort à la peste bovine, car :

Un chevreau 150-7 reçut, en même temps que le précédent, 20 cent. cubes du même filtrat; il mourut le neuvième jour, après une maladie non régulière, mais nette.

Le 1^{er} juillet : le *veau 100-P* reçut 20 cent. cubes d'extrait, filtré sur trois bougies, du cuir du 99-F après quatre jours de salage. Il n'eut rien et mourut à la réinoculation, avec une maladie classique comme symptômes et lésions.

Cette fois encore, l'ingestion s'était montrée inefficace, la scarification vaccinante.

L'extrait de la peau fraîche a donné la maladie et le cuir salé de quatre jours s'est montré inactif.

PREMIÈRE SÉRIE : QUATRIÈME EXPÉRIENCE.

Le 100-A est inoculé avec le sang du 99-E, il fait une maladie classique; le septième jour après l'inoculation, il est utilisé comme fournisseur de virus, par lavage du péritoine, pour charger nos animaux à sérum; le deuxième jour après inoculation, il est tué par assommement; autopsie concluante.

Le 4 juillet, *le veau 101-Q* reçoit sous la peau 20 cent. cubes d'extrait non filtré de la peau fraîche du 100-A. Il fait une maladie très nette, meurt le dixième jour; son autopsie est concluante.

Le veau 101-P reçoit 20 cent. cubes, même extrait, filtré en trois portions sur trois bougies; il n'a rien, on le réinocule quatorze jours après; il fait une peste bovine typique, à laquelle il succombe neuf jours après réinoculation, avec des lésions pestiques.

Deux expériences parallèles sont faites sur le *chevreau 154* qui reçoit 20 cent. cubes d'extrait non filtré de peau fraîche. Il fait une maladie normale et meurt le huitième jour au soir, et sur le *chevreau 153* qui, ayant reçu 20 cent. cubes en trois portions sur trois bougies, et ne présentant rien, est inoculé le quatorzième jour, et meurt, sept jours après la réinoculation, de maladie typique, avec autopsie concluante.

Nous pouvions conclure que l'extrait de peau fraîche non filtré avait été dans cette expérience, virulent, deux fois sur deux et que la filtration, deux fois sur deux, avait retenu les germes pestiques de la peau.

PREMIÈRE SÉRIE : CINQUIÈME EXPÉRIENCE.

Le veau 101-B est inoculé, le 3 juillet avec 1 cent. cube de sang du 100-A (précédent).

Il fait une maladie classique, belle ascension thermique, a le péritoine lavé pour fournir du virus le septième jour (10 juillet) et meurt le huitième jour au soir; l'autopsie n'est pas faite.

Le chevreau 156 reçoit 60 cent. cubes d'extrait (filtré sur trois bougies) de la peau fraîche du 101-B.

Il meurt en neuf jours après hyperthermie nette, légers symptômes classiques et lésions d'autopsie légères, mais attribuables à la peste bovine.

Le veau 102-T et le veau 102-U reçoivent 60 cent. cubes du même extrait; ils n'ont rien. Réinoculés, ils meurent onze et trente-quatre jours après la réinoculation de peste bovine, cliniquement et nécropsiquement constatée.

Le chevreau 155 et le veau 102-S reçoivent de l'extrait (non filtré) de peau fraîche et meurent d'infection putride. Peut-être le 102-S a-t-il fait en même temps de la peste bovine? Des lésions légères, qui pouvaient ressortir à cette maladie, furent observées à l'autopsie, sur la caillette.

Le 15 juillet, *la chèvre 157 et le veau 102-V* reçoivent 60 cent. cubes d'extrait (filtré sur trois bougies) de cuir salé pendant quatre jours. Ils ne présentent rien. Réinoculés, ils meurent de peste bovine cliniquement affirmée, vérifiée à l'autopsie.

De ces expériences d'orientation, on peut déduire :

1° Que l'extrait, filtré, de peau fraîche ne donne pas constamment la maladie (positif trois fois sur dix essais, une fois douteux, six fois négatif) :

Extrait filtré de peau fraîche.

98-A	0
99 C.	0
146 ch (douteux, guérit à la réinoculation)	0
100-0	+
150 ch.	+
101-P	0
153 ch	0
156 ch.	+
102-T	0
102-U	0

2° Que l'extrait filtré de cuir salé, ne l'a jamais donnée (négatif six fois sur six) :

Extrait filtré de cuir salé.

98-E	0
148 ch	0
99-S	0
100-P	0
157 ch	0
102-V	0

Il y a donc probabilité de la non-virulence.

3° Que l'ingestion, la scarification, sont des procédés infidèles.

4° Que l'extrait, non filtré, de peaux fraîches ou non, souillées, ne peut être utilisé tel quel.

Fort de ces constatations, nous avons entrepris une autre série d'expériences, plus concluantes, que nous allons exposer :

DEUXIÈME SÉRIE : PREMIÈRE EXPÉRIENCE.

Le fournisseur de peau fut *le veau 106-R*, inoculé le 7 août avec virus du 105-I.

106-R eut une maladie typique. Le septième jour, son sang servit à assurer le 107^e passage, et fut inoculé à raison de 1 cent. cube par bête aux seize veaux 107, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U (animaux destinés à fournir le virus) qui firent *tous* la maladie, et moururent *tous*.

Le veau 106-R ne subit pas de lavage péritonéal, car on aurait pu objecter que le lavage du péritoine (dont ont presque tous été l'objet les porte-virus précédents) diminuait peut-être le nombre de germes virulents de l'organisme.

Bien que cette objection paraisse fort peu probable, 106-R fut laissé intact jusqu'au huitième jour après l'inoculation. On le sacrifia alors par assommement. L'autopsie fut positive.

On préleva un fragment de sa peau, ce fragment fut rasé, lavé à l'eau physiologique, haché, broyé. On en fit l'extrait, dont on filtra une moitié, divisée en trois portions, dont chacune fut filtrée sur une bougie particulière; les trois filtrats mélangés.

Quatre veaux, 107-C et 107-D, 107-A et 107-B avaient été isolés et laissés au jeûne complet pendant vingt-quatre heures.

107-C et 107-D reçurent de l'extrait non filtré par toutes les voies possibles :

a) 40 cent. cubes sous la peau.

b) 20 cent. cubes intrapéritonéal.

c) Par scarifications sur la croupe et la face interne des cuisses.

d) Par ingestion : herbe hachée, mélangée de virus; fragment de peau dans l'auge (il avait été fait en même temps des

mouchetures sur la muqueuse buccale). Les animaux ne reçurent, pendant les vingt-quatre heures qui suivirent, aucun autre aliment.

e) Par écouvillonnage des fosses nasales avec un tampon monté, imbibé de l'extrait.

109-A et 10-E furent traités de façon absolument identique, *mais avec de l'extrait filtré* (sur trois bougies), ce qui permit de substituer pour eux l'injection intraveineuse à l'injection intrapéritonéale.

Les animaux traités par l'extrait non filtré, 107-C, 107-D, prirent la maladie. 107-C mourut en vingt-trois jours, 107-D fit une maladie typique, nettement diagnostiquable cliniquement, et guérit.

107-A et B, qui reçurent l'extrait filtré, *n'eurent rien* et moururent à la réinoculation, en dix et vingt-trois jours, après maladie incontestable et lésions d'autopsie suffisamment marquées.

La même expérience fut instituée, dans des conditions identiques, avec le cuir du même 106-R après *trois jours de salage*.

107-W et 107-Y reçurent cet extrait, *non filtré*, par le même ensemble de voies.

Ils ne présentèrent aucun trouble morbide. Après réinoculation, 107-W lit la maladie, *avec courbe* de température typique et guérit; 107-Y eut une maladie nette, brutale, qui le tua en huit jours.

107-AE et 107-Z reçurent l'extrait du cuir salé de 106-R, mais après filtration sur trois bougies.

Ils restèrent indemnes. Réinoculés douze jours après, ils firent une maladie évidente et moururent respectivement vingt-trois et vingt-deux jours après la réinoculation.

Cette expérience typique aurait pu suffire à confirmer les présomptions résultant des cinq premières.

Mais, étant donné les séries heureuses ou néfastes que l'on rencontre parfois dans la peste bovine et qui risquent d'abuser les expérimentateurs novices dans l'étude de cette maladie, nous résolûmes de la renouveler.

Les conditions ayant peu varié, nous serons plus brefs.

DEUXIÈME SÉRIE : DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Veau fournisseur de virus : 109-J. Inoculé le 28 août. Maladie classique. Hyperthermie maximum : 41°4 le septième jour, assommé le dixième sans avoir subi de lavage du péritoine.

Avec le sang de 109-J, furent inoculés le 4 septembre (au septième jour), à la dose de 1 cent. cube chacun, 17 animaux : E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, du 110^e passage, qui moururent tous entre le 12 et le 19 septembre. Avec l'extrait de peau fraîche non filtré du 108-J, on infecta les veaux 110-V et 110-X, par toutes les voies employées dans la précédente expérience.

Ils firent une maladie typique et moururent les dix-huitième et dix-neuvième jours, avec des lésions d'autopsie caractéristiques.

110-Y et 110-Z reçurent le *même extrait de peau fraîche* filtré sur bougies.

Ils ne présentèrent rien d'anormal. On les réinocula le neuvième jour. Tous deux firent une ascension thermique nette, eurent de légers symptômes et guérirent. Ils avaient paru vaccinés par la première injection (comme le chevreau 146 de la 1^{re} série d'expériences).

Les 111-A et B reçurent identiquement des mêmes façons l'extrait, *non filtré, du cuir salé du 109-J, après quatre jours de salage*. Aucun symptôme de maladie. Réinoculés le seizième jour après la 1^{re} injection :

Le 111-A fit une maladie nette, sérieuse, dont il guérit.

Le 111-B mourut le dixième jour après réinoculation, avec des lésions caractéristiques.

Les 111-C et D reçurent, toujours des mêmes façons, l'extrait filtré du cuir du 109-J après quatre jours de salage.

Le 111-C n'eut rien. Réinoculé le onzième jour, il fit une maladie légère et guérit.

Le 111-D n'eut rien, mais succomba en vingt et un jours à la réinoculation, après une maladie nette, avec lésions d'autopsie confirmatives.

DEUXIÈME SÉRIE : TROISIÈME EXPÉRIENCE.

Les *filtrations* d'extrait de peaux, même fraîches, donnant presque constamment des résultats négatifs, et les extraits de peaux simplement rasées et lavées à l'eau physiologique, pouvant être injectés dans le péritoine sans danger d'infection banale, les extraits *non filtrés* furent seuls employés dans la dernière expérience.

Le fournisseur de peau fut le veau 111-V infecté le 14 septembre avec 1 cent. cube du mélange à parties égales des sangs des veaux 110-D et 11-P.

111-V eut une maladie assez peu accentuée au point de vue thermique; cependant, il eut 40° le sixième jour après inoculation, avec courbe nettement ascensionnelle.

112-P reçut l'extrait, non filtré, de peau fraîche du 111-V: 20 cent. cubes sous-cutané, 20 cent. cubes intrapéritonéal, scarifications, ingestion, etc...

Il eut une maladie irrégulière, saccadée, avec de légers symptômes cliniques.

Réinoculé avec sang virulent du 114-M (qui donne la maladie à 12 veaux de passage) le dix-huitième jour après l'inoculation primitive. Sa température était alors retombée à la normale. Il n'eut plus d'ascension thermique et guérit.

112-S reçut, des mêmes façons, de l'extrait du cuir de 111-V, après vingt-quatre heures seulement de salage.

112-S n'eut rien et, réinoculé le dix-huitième jour avec le sang du 114-M, il mourut six jours après, avec ascension thermique forte et lésions d'autopsie sérieuses.

112-T reçut également, des mêmes façons, de l'extrait non filtré de cuir salé de vingt-quatre heures. Il n'eut rien. Réinoculé le dix-huitième jour, il fit une ascension thermique nette, présenta des symptômes assez accentués jusqu'à la diarrhée, mais guérit.

112-V et 112-U reçurent de même façon de l'extrait non filtré de cuir salé de quarante-huit heures.

112-V n'eut rien. Réinoculé au seizième jour, il fit une

maladie nette, avec courbe thermique accentuée, eut de la diarrhée, mais guérit.

112-U n'eut rien. Réinoculé, il fit une ascension thermique nette (40°8) et mourut dix jours après réinoculation, avec des lésions d'autopsie nettes.

Les 113-D et E reçurent, identiquement de même, de l'extrait non filtré de peau après trois jours de salage. 113-D n'eut rien. Réinoculé au quinzième jour, il fit une maladie incontestable (40°6) avec symptômes cliniques allant jusqu'à la diarrhée et mourut seize jours après, avec des lésions d'autopsie nettes.

Le 113-E n'eut rien; réinoculé le quinzième jour, il fit une courbe irrégulière, présenta quelques légers symptômes cliniques. Sacrifié trois jours après la réinoculation, il montra des lésions d'autopsie caractéristiques (piqueté hémorragique et ulcérations de la caillette et du cæcum.

Nous n'avons donc jamais pu transmettre la maladie par les peaux, dès qu'elles ont cessé d'être fraîches, malgré les conditions particulièrement sévères des expériences :

Animaux tués au moment du maximum de virulence des tissus et liquides organiques;

Bêtes non saignées; peaux gorgées de sang et de virus; multiplicité extrême des voies d'inoculation; procédés particulièrement sévères (badigeonnage des fosses nasales, injection sous-cutanée, injection intrapéritonéale).

Les conditions de la pratique sont infiniment moins sévères, les cuirs salés verts exigeant vingt jours de salage, suivis d'un broissage parfait, avant d'être expédiés.

Nous pensons, en conséquence, pouvoir affirmer que les cuirs salés verts peuvent être importés en France sans aucun risque d'y introduire la peste bovine.

RECHERCHES
SUR LA SPÉCIFICITÉ DU RAPPORT
« TOXIQUE-ANTITOXIQUE ».
(UTILISATION EN THÉRAPEUTIQUE VÉGÉTALE) (1)

par C. PICADO.

L'une des idées directrices des travaux d'Ehrlich et de son école, en ce qui concerne la thérapeutique animale, est que tout médicament possède deux propriétés : l'une « organotrope » et l'autre « parasitotrope ». Etant donné la similitude de constitution chimique de l'hôte et du parasite, tout corps nuisible au parasite sera aussi plus ou moins nuisible à l'hôte ; mais, en variant la composition chimique de ce corps, on peut renforcer les propriétés « parasitotropiques », tout en diminuant ses propriétés organotropiques et arriver ainsi à préparer des médicaments doués de propriétés spécifiques vis-à-vis d'un parasite donné.

Peut-on appliquer le même principe en thérapeutique végétale ? Théoriquement on pourrait répondre d'une manière affirmative, mais pratiquement on constate qu'il est impossible de faire circuler dans les végétaux un composé chimique quelconque et que l'on ne peut compter que sur l'absorption par les racines, toujours plus ou moins élective. On conçoit aussi aisément que les corps chimiques ajoutés à la terre de culture sont plus ou moins rapidement décomposés par les agents extérieurs, l'eau, l'air, l'action des micro-organismes, etc. Il faut donc perdre l'espoir de pouvoir préparer pour les végétaux des composés comparables aux arsénobenzols par exemple.

Nous pouvons cependant suivre une autre voie et faire intervenir les antitoxiques qui permettront à la plante de supporter

(1) Des recherches commencées nous autorisent à penser que le rapport « toxique-antitoxique » est aussi spécifique pour les animaux que pour les micro-organismes végétaux : levures, bactéries, etc.

des doses très fortes de substances parasitocides. Si nous mélangeons à la terre de culture une substance toxique, la plante s'intoxique, mais si nous ajoutons un antitoxique à dose convenable, la plante supporte le toxique; c'est-à-dire que, lorsque les végétaux absorbent en même temps la substance toxique et la substance antitoxique, ils fabriquent un composé organique non organotropique.

Reste à savoir si le rapport toxique-antitoxique est spécifique. S'il en est ainsi, nous pouvons espérer trouver un rapport indifférent pour la plante et insupportable pour le parasite.

Un certain nombre de faits plaident en faveur de cette conception de spécificité du rapport toxique-antitoxique. Nous allons en citer quelques exemples (1).

A. On sait que le rapport calco-magnésien $\frac{\text{CaO}}{\text{MgO}}$ présente un optimum qui varie d'une espèce végétale à une autre, même si celles-ci sont très voisines: le rapport optimum est de 1 pour le blé; 1,5 pour l'oignon; 2 pour l'orge; 2,5 pour le soja et 3 pour le sarrasin (chiffres donnés par Molliard).

B. On a fait remarquer (Laurent) que la composition du sol peut influencer la distribution du gui sans que l'on puisse noter des variations dans l'aspect des arbres qui le supportent.

C. L'addition de Zn au sol favorise l'infestation des graminées par les champignons parasites (Javillier).

D. J'ai eu l'occasion d'employer un complexe toxique-antitoxique: ferromanganèse, et j'ai pu constater que les fortes doses: 500 à 600 kilogrammes à l'hectare, tout en augmentant la végétation de la graminée, empêchent la rouille de l'avoine.

J'ai institué des expériences pour savoir si l'on peut utiliser la spécificité du rapport toxique-antitoxique pour lutter contre les maladies parasitaires des végétaux, particulièrement contre les parasites qui, comme les *Fusarium*, se multiplient dans le sol et s'introduisent dans les racines ou dans d'autres parties souterraines des végétaux.

A l'exemple de Noël Bernard, j'ai pensé que le premier cas à étudier devait être un cas de symbiose, car on peut la provo-

(1) Le cas le plus démonstratif nous est fourni par le mélange venin de serpent + sérum antivenimeux qui, tout en étant neutre pour les mammifères, tue cependant encore les oiseaux.

quer à coup sûr, tandis qu'il n'en est pas de même pour les maladies causées par les bactéries ou les champignons. J'ai choisi les nodosités des légumineuses dont les symptômes d'infection ne peuvent pas nous échapper.

Etudions donc les divers cas qui peuvent se présenter :

- 1° Toxique et antitoxiques solubles ne formant pas un composé insoluble ;
- 2° Toxique et antitoxique très légèrement solubles ;
- 3° Toxique soluble, précipitable par un antitoxique soluble ;
- 4° Toxique insoluble et antitoxique soluble ;
- 5° Toxique et antitoxique insolubles.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE (TOXIQUE ET ANTITOXIQUE SOLUBLES).

E. Marchal (1) a montré que certaines substances peuvent empêcher la formation de nodosités chez les légumineuses, mais ces substances sont en même temps nuisibles à la plante-hôte ; c'est ainsi que des cultures en milieu liquide (*Sachs*) additionné de NaCl à 5 p. 100 donnent une végétation très faible et pas de nodosités ; avec 1,5 p. 1.000 la végétation est normale et les nodosités commencent à apparaître.

Le même auteur a constaté que les sels de Ca et Mg exercent une influence très favorable sur la formation des nodosités. Il termine ainsi :

« L'examen de ces résultats fait voir que le microbe des nodosités du pois est plus sensible que son hôte à la plupart des substances antiseptiques. Tel composé qui, à une dose déterminée, respecte la vitalité du pois, entrave en proportion beaucoup plus faible encore l'évolution du *Rhizobium*. Il en est notamment ainsi des sels Zn, Ag, Hg, Cu, des acides borique et phénique ; en revanche, les sels de Pb et de Mn sont beaucoup moins toxiques pour le microbe, de même d'ailleurs que pour le pois. »

Je me suis demandé si l'on pouvait obtenir un développement normal de la légumineuse avec une dose assez forte d'un toxique neutralisé par un antitoxique, mais de manière que

(1) De l'influence de la nutrition minérale sur le développement des nodosités des légumineuses. Recherches de biologie expérimentale appliquée à l'agriculture, publiées par Emile Laurent, 1, p. 343.

l'ensemble reste toxique pour les bactéries des nodosités et empêche la formation de ces dernières.

Il est bien connu que le nitrate de Mg est un des corps les plus antitoxiques; mais, comme les composés azotés, par eux-mêmes, empêchent souvent la formation de nodosités, et qu'il convenait de se placer d'abord dans les conditions *les plus favorables à la formation des nodosités*, j'ai choisi comme antitoxique l'*hydrate de calcium* qui favorise la formation des nodosités en même temps que la végétation des légumineuses, et comme toxique le *chlorure de sodium* qui est à la fois nuisibles pour les bactéries des nodosités et pour les légumineuses.

A. Les expériences ont été ainsi disposées : (Cultures en pot).

1 lot de 12 plantes avec 3 p. 1.000 de NaCl.

1 lot de 12 plantes avec 5 p. 1.000 de NaCl.

1 lot de 12 plantes avec 7 p. 1.000 de NaCl.

B. Mêmes lots et quantités de NaCl, mais avec addition de 4 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

C.

1 lot de 9 plantes témoins.

1 lot de 9 plantes avec 4 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

1 lot de 9 plantes avec 6 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

D.

1 lot de 12 plantes avec 2 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

1 lot de 12 plantes avec 4 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

1 lot de 12 plantes avec 6 p. 1.000 de Ca(OH)^2 .

Chaque lot avec 5 p. 1.000 de NaCl.

Chaque lot a reçu la même quantité de terre contaminée avec des nodosités broyées et pendant toute la durée de l'expérience on a arrosé avec la même quantité d'eau.

Les pots ayant reçu du sel seul ont donné des plantes dont les racines sortaient de terre et serpentaient à la surface; les pots ayant reçu du sel, plus de la chaux, présentaient aussi le même phénomène, mais beaucoup moins marqué.

Les plantes de la série A, avec NaCl, ont souffert un retard de

croissance d'autant plus marqué que la dose de NaCl était plus



FIG. 1. — Haricots cultivés en présence du toxique seul (NaCl).



FIG. 2. — Diverses doses du toxique (NaCl) en présence d'une même dose d'antitoxique $[Ca(OH)_2]$.

forte (fig. 1). Celles ayant reçu 4 et 6 p. 1.000 de chaux étaient

mieux que celles qui servaient de témoin (fig. 2), mais elles ont commencé à devenir malades (Fanaïson bactérienne).

Les plantes de la série B se sont développées beaucoup plus que celles ayant reçu seulement NaCl (fig. 2) et même notablement par rapport aux témoins.

L'optimum de développement fut obtenu par les plantes

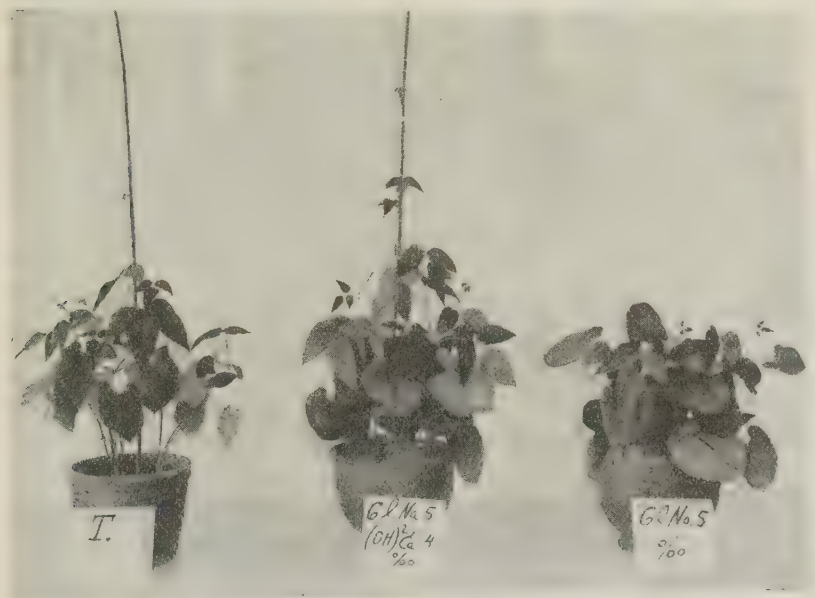


FIG. 3. — Action du toxique seul (NaCl) et du toxique + antitoxique NaCl + Ca(OH)². — A gauche témoin.

ayant reçu 5 p. 1.000 de NaCl et 4 et 6 p. 1.000 de Ca (OH)² (fig. 3).

L'expérience a été arrêtée trente-cinq jours après le semis. L'examen des racines a donné les résultats que voici :

Les plantes ayant reçu seulement NaCl (série A) donnent avec 3 p. 1.000 de NaCl beaucoup de nodosités bien développées. Avec 5 p. 1.000 de NaCl, il y a des nodosités moyennes à la partie supérieure des racines. Avec 7 p. 1.000 de NaCl, très peu de nodosités et seulement très petites à la partie supérieure des racines.

Dans la série B). Avec 3 de NaCl + 4 de chaux, de nombreuses nodosités; il n'y a pas de différence avec les plantes ayant reçu NaCl seul. Avec NaCl 5 + 4 de chaux (24 plantes

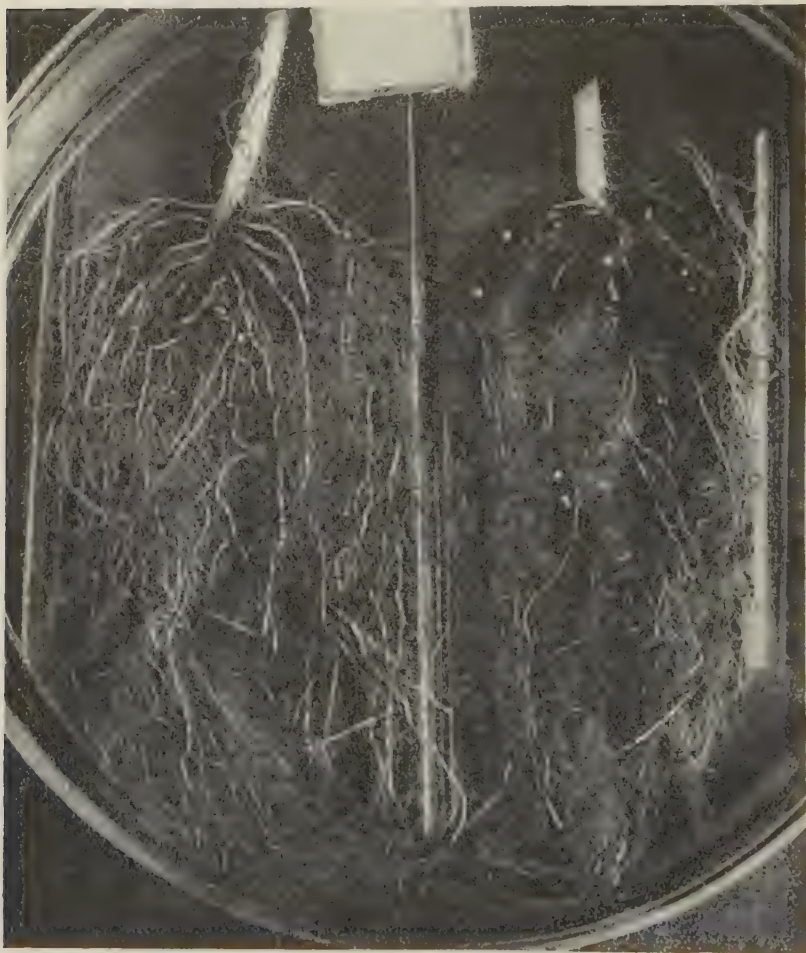


Fig. 4. — Nodosités développées en présence de $[Ca(OH)_2]$ à droite et dans de la terre naturelle à gauche.

en 2 pots), 12 ont des nodosités moyennes, 6 de petites nodosités dans les racines supérieures et 6 n'ont pas de nodosités. Avec 7 de NaCl + 4 de chaux (11 plantes), 2 ont des nodosités

moyennes, 6 de petites nodosités clairsemées et 3 sont sans nodosités.

Dans la série C), toutes les plantes ont de nombreuses nodosités, bien réparties sur les racines et assez volumineuses. Celles des plantes ayant reçu 6 p. 1.000 de chaux (comme il était à supposer) ont eu les nodosités les plus développées.

Dans la série D), avec 5 de NaCl + 2 de chaux (9 plantes), on a obtenu : 1 avec de grosses nodosités, 2 à nodosités moyennes et 6 à petites nodosités. Avec 5 de NaCl + 4 de chaux (Voir plus haut, série B). Avec 5 de NaCl + 6 de chaux (12 plantes), 2 plantes à nodosités moyennes, 3 à petites nodosités et 7 sans nodosités (fig. 4).

Résumé :

Témoins et plantes ayant reçu seulement de la chaux (fig. 4). 100 p. 100 de grosses nodosités.

Plantes avec 5 p. 1.000 de NaCl et 2 p. 1.000 de chaux :

Végétation normale	10 p. 100 à grosses nodosités.
Végétation normale	30 p. 100 à nodosités moyennes.
Végétation normale	60 p. 100 à petites nodosités.

Plantes avec 5 p. 1.000 de NaCl et 4 p. 1.000 de chaux :

Optimum de croissance	50 p. 100 à grosses nodosités.
Optimum de croissance	25 p. 100 à petites nodosités.
Optimum de croissance	25 p. 100 sans nodosités.

Plantes avec 5 p. 1.000 de NaCl et 6 p. 1.000 de chaux :

Mieux développées que les témoins. . .	0 p. 100 à grosses nodosités.
Mieux développées que les témoins. . .	17 p. 100 à nodosités moyennes.
Mieux développées que les témoins. . .	25 p. 100 à petites nodosités.
Mieux développées que les témoins. . .	58 p. 100 sans nodosités.

Nous avons remarqué que l'addition de NaCl à 5 et 7 p. 1.000 produit un notable ralentissement de la germination des haricots. Cet effet doit être produit non seulement à cause de la toxicité de NaCl, mais aussi à cause de son pouvoir déshydratant. Les plantes qui ont reçu NaCl 3 et 5 p. 1.000 ont donné des feuilles simples très grandes. Cette activation de la croissance des feuilles se produit en présence ou en l'absence de chaux (Voir fig. 1 et fig. 3). La racine principale des plantes ayant reçu NaCl seul reste très réduite et plusieurs racines secondaires se développent beaucoup, mais dans le sens hori-

zontal; l'addition de chaux corrige beaucoup cette anomalie.

Nous avons constaté à la fin de l'expérience que la terre de la surface des pots ne renfermait *presque pas* de NaCl et que celui-ci s'était accumulé à la partie inférieure des pots qui *n'était pas atteinte par les racines*. Il se dégage nettement de cette constatation que les plantes n'ont pas été *continuellement soumises à l'influence du toxique* et cela nous explique la production de nodosités à la partie plus superficielle des racines; parfois, on voyait des nodosités hors terre.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE (TOXIQUE ET ANTITOXIQUE PRESQUE INSOLUBLES).

On sème des haricots dans des pots contenant 0 gr. 025, 0,05, 0,10, 0,20 et 0,40 p. 1.000 de carbonate de cuivre. D'autres pots reçoivent les mêmes doses du sel de cuivre, plus 6 p. 1.000 de carbonate de chaux.

Avec 0,20 et 0,40 p. 1.000 de carbonate de cuivre, la germination est retardée et plusieurs plantes sont anormales: tiges tordues, bourgeons à l'aisselle des cotylédons, feuilles simples à la place de feuilles composées, etc. Les racines principales sont très petites et les autres très superficielles. L'addition de carbonate de calcium corrige ces anomalies.

Les plantes ayant reçu du carbonate de cuivre seul ont donné des racines ayant des nodosités plus grandes que les témoins et que celles des plantes ayant reçu du carbonate de calcium seul.

L'addition de carbonate de cuivre favorise donc la formation des nodosités et devient nuisible à la plante aux doses de 0,40 et 0,20 p. 1.000.

L'adjonction de carbonate de calcium produit le double effet que voici:

- 1° Atténuation de l'effet nuisible pour les haricots;
- 2° Diminution de l'effet favorisant la formation des nodosités.

C'est-à-dire effet contraire pour l'hôte et pour le parasite: favorable au premier, nuisible au second.

Dans le cas que nous venons d'étudier, nous voyons encore que l'intervention de l'antitoxique fait changer en sens opposés l'action du toxique.

TROISIÈME EXPÉRIENCE

(TOXIQUE SOLUBLE PRÉCIPITABLE PAR UN ANTITOXIQUE SOLUBLE).

A. Terre additionnée de 0,25 p. 1.000 de fluorure de cuivre. Les racines sont courtes et grosses. Il y a des plantes anormales comme dans le cas de carbonate de cuivre.

Au bout de trente-cinq jours (durée de toutes les expériences), on trouve (sur 9 plantes) : 1 anormale, 2 à nodosités et 6 sans nodosités.

B. Reçoit 0,25 de fluorure de cuivre + 4 p. 1.000 de chaux. On corrige les anomalies; racines normales. A la fin, on obtient 4 plantes à grosses nodosités, 4 à petites nodosités, 1 sans nodosité.

C. 0,50 p. 1.000 de fluorure de cuivre seul. Végétation excellente. Formation de nodosités.

D. 0,50 de fluorure de cuivre + 4 p. 1.000 de chaux. Pas de différence avec C., sauf que les racines sont plus longues.

On constate que le fluorure de cuivre 0,25 à 0,50 p. 1.000, avec ou sans chaux, n'a pas une influence appréciable sur la formation des nodosités.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE

(TOXIQUE SOLUBLE ET ANTITOXIQUE INSOLUBLE).

Avec 0,50 p. 1.000 de HgCl , les plantes meurent et ne sont pas préservées par addition de 4 p. 1.000 de chaux.

Avec 0,25 p. 1.000, il y a un retard de sept jours dans la germination. Les plantes sont chétives, les feuilles petites et tachées de jaune et vert foncé, racines très réduites. L'addition de chaux semble aggraver l'intoxication.

Cette expérience nous montre que la chaux n'est pas antitoxique pour HgCl dans le cas des haricots.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE

(TOXIQUE ET ANTITOXIQUE INSOLUBLES).

Comme les principaux symptômes d'intoxication par le HgCl se traduisaient par des anomalies chlorophylliennes, nous avons

tâché de trouver un antitoxique dans l'un des corps prenant part à la formation de la chlorophylle : Fe, Mn, As et aussi soufre.

Une série de pots ayant tous 0,20 p. 1.000 de HgCl reçoivent les corps suivants (antitoxiques insolubles ou presque) :

A. Reçoit 0,10 p. 1.000 de soufre. Toutes les plantes se sont mieux développées que les témoins, feuilles normales. Au bout de trente-cinq jours, on obtient 50 p. 100 à nodosités et 50 p. 100 sans nodosités. Racines à aspect normal, mais de couleur jaune sale.

B. Reçoit 0,05 de soufre. Développement des plantes un peu inférieur aux témoins, mais très supérieur par rapport aux plantes ayant reçu HgCl seul à la même dose. Ces plantes ont des racines à aspect normal, mais avec 0 p. 100 de nodosités.

C. Reçoit comme antitoxique As^2O^3 à la dose de 0,05 p. 1.000. Les plantes sont un peu plus petites que les témoins; les feuilles simples sont aussi un peu plus petites et encore un peu tachées.

Les racines sont longues et sans aucune nodosité.

D. 0,025 de As^2O^3 ne préserve pas de l'intoxication.

E. Reçoit comme antitoxique 0 gr. 50 p. 1.000 de MgO. Les plantes sont en mauvais état, 1 seule présente des nodosités.

F. 1 p. 1.000 de Mg donne une mauvaise végétation.

G. MnO^2 à la dose de 0 gr. 10 p. 1.000 donne des plantes plus petites que les témoins, mais les feuilles ne sont plus tachées, 0 p. 100 de nodosités.

H. Avec 0,05 p. 1.000, plantes mauvaises.

I. Avec du carbonate de fer aux doses de 0 gr. 20 et 0,10 p. 1.000 les plantes se présentent plus intoxiquées qu'avec le HgCl seul.

Cette expérience nous montre que l'intoxication des haricots par le HgCl à 0,20 p. 1.000 est absolument neutralisée par l'addition de soufre à la dose de 0 gr. 10 p. 1.000 et que ce couple : « toxique-antitoxique » est nuisible à la formation des nodosités; mais si la dose de soufre est réduite à 0,05 p. 1.000 les haricots se développent moins que les témoins et sans aucune nodosité. Il se dégage nettement que le rapport $\frac{HgCl}{S}$, indifférent pour les haricots et insupportable pour les bactéries des nodosités, doit se trouver (pour 0,20 p. 1.000 de HgCl) compris entre 0,10 et 0,05 p. 1.000 de soufre.

Dans une dernière expérience, nous avons cherché à préciser ce rapport et nous rendre compte de la possibilité de remplacer le soufre par l'anhydride arsénieux ou par le bioxyde de manganèse à dose convenable.

SIXIÈME EXPÉRIENCE.

Chlorure de mercure 0,20 p. 1.000 + soufre + anhydride arsénieux et bioxyde de manganèse à diverses doses.

A. On emploie comme antitoxique As_2O_3 aux doses de 0,06-0,07 et 0,08 p. 1.000. Toutes les plantes présentent des signes d'intoxication.

B. On utilise MnO_2 comme antitoxique aux doses de 0,12-0,14 et 0,16 p. 1.000. Avec 0,12 et 0,14 p. 1.000, on trouve les plantes chétives mais moins intoxiquées qu'avec HgCl seul. Avec 0,16 p. 1.000, toutes les plantes restent de taille moyenne; le rapport toxique-antitoxique commence à devenir tolérable.

C. L'antitoxique est le soufre aux doses de 0,06, 0,07, 0,08 et 0,09 p. 1.000.

Dans cette expérience, on devait théoriquement trouver le rapport $\frac{\text{HgCl à } 0,20 \text{ p. } 1.000}{\text{S, à } X \text{ p. } 1.000}$ indifférent pour les haricots, mais intolérable pour les bactéries des nodosités.

Voici les résultats :

Avec 6,7 et 8 centigrammes de soufre par kilogramme de terre, les plantes se développent bien; les feuilles sont normales, mais la taille des plantes reste légèrement au-dessous de celle des témoins; dans les trois cas, il y a 0 p. 100 de nodosités. Les racines sont normales.

Avec 9 centigrammes de soufre par kilogramme, les plantes se développent plus que les témoins, et à la fin de l'expérience on a trouvé seulement trois petites nodosités dans la totalité des racines (9). Le rapport doit donc être compris entre 8 et 9 centigrammes par kilogramme. Mais comme ces expériences confirment pleinement la théorie, il était inutile d'essayer de trouver le chiffre tout à fait juste. Le tableau ci-joint permet de comparer les rapports « toxique-antitoxique » des corps chimiques qui ont permis d'obtenir des différences bien marquées dans leur comportement vis-à-vis de l'hôte et du parasite.

Il est à noter que, dans le cas des nodosités des haricots, l'infection est seulement empêchée; mais une fois les nodosités produites, on n'obtient pas leur disparition, par exemple si l'on transplante les haricots avec des nodosités dans de la terre

Tableau des rapports « toxique-antitoxique ».

TOXIQUE + ANTITOXIQUE		RAPPORT HÔTE	POUR PARASITE
TOXIQUE	ANTITOXIQUE		
NaCl, 5 p. 1.000.	Ca (OH) ² , 4 p. 1.000.	Favorable [optimum] (avantage sur le témoin).	Nuisible (25 p. 100 sans nodosités).
NaCl, 5 p. 1.000.	Ca(OH) ² , 6 p. 1.000.	Favorable (mieux que témoin).	Nuisible (58 p. 100 sans nodosités).
HgCl, 0,20 p. 1.000.	S, 0,10 p. 1.000.	Favorable (supérieures aux témoins).	Nuisible (50 p. 100 sans nodosités).
HgCl, 0,20 p. 1.000.	S, 0,05 p. 1.000.	Presque indifférent (léger désavantage par rapport aux témoins).	Intolérable (0 p. 100 de nodosités).
HgCl, 0,20 p. 1.000.	As ² O ³ , 0,05 p. 1.000.	Presque indifférent (léger désavantage par rapport aux témoins).	Intolérable (0 p. 100 de nodosités).
HgCl, 0,20 p. 1.000.	S, 0,06-0,07 p. 1.000. et 0,08 p. 1.000.	Presque indifférent (léger désavantage par rapport aux témoins).	Intolérable (0 p. 100 de nodosités).
HgCl, 0,20 p. 1.000.	S, 0,09 p. 1.000.	Favorable (supérieures aux témoins).	Presque intolérable.

mélangée avec les proportions de toxique + antitoxique qui empêchent la formation de nodosités. Remarquons, en outre que, dans le cas de HgCl + S, il y a un rapport intolérable pour la formation des nodosités, mais si l'on augmente la quantité de S, les nodosités commencent de nouveau à se former.

Conclusions.

1° L'addition de 5 p. 1.000 de $\text{NaCl} + 2,4$ ou 6 p. 1.000 de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ à la terre de culture constitue un complexe « toxique-antitoxique » indifférent pour les plants de haricots, mais qui empêche ou diminue (en nombre et grandeur) la formation des nodosités ;

2° Le complexe « toxique-antitoxique » HgCl à 0,20 p. 1.000 + S à 0,08 p. 1.000 n'est pas nuisible pour la légumineuse, mais rend impossible la formation des nodosités ;

3° Il est donc possible de neutraliser un toxique par un antitoxique approprié spécifiquement vis-à-vis d'une plante-hôte, le complexe « toxique-antitoxique » restant cependant toxique pour le parasite et rendant ainsi l'infection impossible.

*(Travail du laboratoire
de l'Hôpital de San José, Costa-Rica.)*

ACTION *IN VITRO*
DE QUELQUES SUBSTANCES CHIMIQUES
SUR LE DÉVELOPPEMENT
DES BACILLES TUBERCULEUX

par LÉON KARWACKI,
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine
de l'Université de Varsovie,

et par STANISLAS BIERNACKI,
Professeur à la Faculté de Médecine
de l'Université de Poznan.

L'action empêchante des substances médicamenteuses sur les cultures de bacilles tuberculeux est, en général, très difficile à prévoir à cause du développement lent et capricieux de ce microbe sur les milieux artificiels, même dans les conditions les plus favorables.

Nous avons évité cette difficulté par le choix d'un bacille bien adapté aux milieux artificiels et poussant très vite.

Nous devons cette race à l'obligeance de M. le professeur Wherry, de Cincinnati. C'est une culture tuberculeuse originelle de Koch qui, après l'isolement, a subi plus de 300 réensemencements. La culture porte le nom 801 et est tellement habituée à la vie saprophytique que le voile sur bouillon commence à apparaître à l'étuve entre le deuxième et le troisième jour.

L'acido-résistance et la morphologie des bacilles sont restées intactes, mais leurs propriétés pathogènes ont complètement disparu.

Au cours de nos recherches nous avons employé la technique suivante :

10 cent. cubes de bouillon glyciné à 4 p. 100, légèrement alcalin (quelquefois neutre ou légèrement acide), après addition d'une quantité connue d'un corps chimique, ont étéensemencés d'une goutte de culture tuberculeuse.

La série de tubes à essai ainsi ensemencés, contenant un corps chimique en différentes proportions, et, en outre, un tube-témoin, a été mise à l'étuve et examiné après quarante-huit heures, puis tous les jours.

Certaines substances nécessitaient pour leur dissolution un véhicule alcoolique. Nous avons donc commencé par établir le pouvoir empêchant de l'alcool. Nos cultures étaient entravées à la concentration de 5 p. 100 par l'alcool éthylique anhydre, et de 10 p. 100 par l'alcool méthylique.

Le nombre de nos expériences est de 161 : nous avons étudié 73 préparations médicamenteuses et 52 colorants.

Plusieurs substances ont été étudiées exclusivement en raison de leur prétendue valeur thérapeutique. Ce groupe de recherches pourrait être traité comme une sorte de contrôle expérimental de la pharmacologie antituberculeuse. Beaucoup de médicaments ont acquis peu à peu, sans preuve suffisante, la réputation d'exercer une action bactéricide sur le virus tuberculeux.

L'action bactéricide, ou au moins inhibitrice, sans organotropisme nuisible, devrait être incontestablement la qualité essentielle d'un médicament chimiothérapeutique idéal, destiné surtout au traitement des foyers ouverts ou accessibles aux injections.

Le développement de l'action bactéricide dans l'urine, chez les malades atteints de tuberculose rénale, à l'aide d'un antiseptique s'éliminant par les reins, serait un progrès réel, même au point de vue prophylactique.

Plusieurs raisons nous ont conduit à essayer de remplacer les notions un peu vagues dans ce domaine par la mesure exacte de la valeur inhibitrice.

Avec une autre catégorie de corps chimiques, il ne s'agissait pas de contrôle expérimental de la valeur d'un médicament antituberculeux, mais plutôt d'essais d'ordre biologique relatifs à la sensibilité des bacilles tuberculeux vis-à-vis d'un de ces corps. Les recherches avec des colorants visaient surtout le but chimiothérapeutique.

Passons maintenant en revue les expériences qui ont abouti à des résultats négatifs. Nous devons faire d'abord cette remarque que l'absence d'action bactéricide ou empêchante ne

prouve nullement qu'un médicament est dénué de valeur curative. Cette propriété curative n'a rien à faire avec l'action bactéricide. Si nous nous adressons, par exemple, au *thiocol*, nos expériences prouvent que les bacilles poussent parfaitement, même dans des solutions à 1 p. 100, tandis que le gaïacol pur empêche la culture à la concentration de 0,3 p. 100.

Le carbonate de gaïacol (duotal) et la gaïacétine sont inactifs aux concentrations de 0,1 p. 100 à 0,2 p. 100, ce qui veut dire qu'une dose journalière de 60 grammes, donnée à un sujet qui pèse 60 kilos, resterait sans action manifeste sur ses bacilles. Pour faire apparaître l'action inhibitrice du gaïacol dans les mêmes conditions, il faudrait donner au malade 180 grammes de médicament. Pour obtenir le même résultat avec d'autres substances, il faudrait employer, d'après nos expériences, 60 grammes de menthol ou bétol, 120 grammes de phénol, d'acide lactique ou salicylique, 180 grammes d'iode, 240 grammes d'essence d'eucalyptus, sans prendre en considération la fonction éliminatrice.

Ces chiffres, croyons-nous, dissipent d'une façon assez éloquente toute illusion quant aux vertus bactéricides de ces substances dans la tuberculose pulmonaire. L'efficacité thérapeutique de plusieurs d'entre elles, observée par certains auteurs, n'a rien à faire avec l'action bactéricide proprement dite.

Nous avons obtenu des résultats assez encourageants avec l'urotropine et ses composés : borovertine, amphotropine, helmitol.

Ces médicaments sont employés couramment dans la tuberculose des voies urinaires. Or, si la totalité du médicament non modifié s'éliminait avec l'urine, et si la teneur en médicament, dans toutes les fractions de l'urine, était constante, en évaluant la quantité d'urine pour vingt-quatre heures à 4 litre il faudrait donner au malade 8 grammes d'urotropine, 6 grammes de borovertine et 4 grammes d'amphotropine ou d'helmitol, pour arrêter le développement des bacilles tuberculeux.

Ces chiffres ne sont plus aussi élevés que les précédents, mais ils restent considérablement au-dessus des doses thérapeutiques habituelles.

Parmi les médicaments réputés jadis comme antituberculeux, l'acide fluorhydrique n'arrête pas la culture au taux de 0,01 p. 100, ce qui veut dire qu'une dose de 6 grammes de cet acide, imprégnant constamment l'organisme d'un tuberculeux d'un poids de 60 kilos, ne produirait aucun effet sur ses bacilles.

Büchner est d'avis que l'action favorable de l'arsenic sur l'évolution de certaines formes de tuberculose pulmonaire dépend de son action bactéricide. Il résulte de nos recherches que l'arsenic colloïdal entrave la culture tuberculeuse aux dilutions de 0,002 p. 100 à 0,01 p. 100, tandis que l'action de l'acide arsénieux est plus faible : 0,02 p. 100.

Les préparations organiques d'arsenic sont inactives, même au titre de 1 p. 100. L'action curative des cacodylates, de l'arrhéнал, de l'atoxyl est donc indépendante de toute propriété bactéricide. Selon l'opinion du professeur A. Gautier, dans certaines formes de la tuberculose il peut exister un appauvrissement de l'organisme en arsenic, comme, dans d'autres maladies, en fer ou en iode. « Il y a des anémies d'arsenic, comme il y a des anémies de fer ou d'iode ». Nos recherches semblent confirmer cette manière de voir.

Parmi les antiseptiques externes, l'acide borique est dépourvu de toute action empêchante au taux de 0,04 p. 100 et le chlorate de potasse au taux de 0,8 p. 100. Le nitrate de potasse et le sulfate de soude ne possèdent pas d'action inhibitrice à la dose de 1 p. 100; de même les alcaloïdes : le chlorhydrate de morphine, le chlorhydrate de pilocarpine, le chlorhydrate de cocaïne, le sulfate d'atropine, le nitrate de strychnine. Seuls le chlorhydrate de quinine et la vératrine exercent une action d'arrêt, le premier à 0,4 p. 100, la seconde à 0,8 p. 100.

Le nucléinate de soude n'arrête pas la culture, même en solution saturée. Le nucléinate de cuivre (*cuprol*) n'a aucune action à la dose de 0,1 p. 100. Il en est de même de l'albuminate de mercure (*mercuro*l).

L'albuminate d'argent (*nargol*) entrave la culture tuberculeuse au taux de 0,08 p. 100.

Certains métaux et métalloïdes en suspension colloïdale, comme l'or, l'argent, le cuivre, le mercure, le zinc, le nickel, le rhodium, le soufre, le sélénium, l'iode, ajoutés jusqu'à la proportion de 10 p. 100 de suspension initiale, se sont montrés

complètement inactifs, à l'exception du zinc, qui retarde manifestement l'apparition du voile. Le sélénium et le soufre semblent plutôt accélérer l'apparition de la culture.

Les colorants suivants sont sans action sur le développement des bacilles tuberculeux à la dose de 0,1 p. 100 : *micado-orange*, *ponceau 4R*, *méthyle-orange*, *tropéoline O*, *Soudan III*, *rouge Congo*, *benzopurpurine*, *azoblu*, *chrysophénine*, *vert brillant*, *fuchsine*, *vert de méthyle*, *auriné*, *coralline*, *pyronine*, *phénol-phthaléine*, *fluorescéine*, *éosine*, *iodéosine*, *méthyléosine*, *alizarine*, *rouge de Magdala*, *nigrosine*, *cyanine*, *indigotine*, *indigocarmin*, *acide picrique*, *orcéine*, *Kernschwarz*. La *pyronine*, l'*alizarine*, la *cyanine*, dénuées d'action empêchante, retardent manifestement l'apparition de la culture.

Le voile tuberculeux s'imprègne habituellement du colorant, et le bouillon se décolore au fur et à mesure de l'absorption de la couleur par le voile, ou change de couleur sous l'influence de l'action des bacilles. Plusieurs colorants de cette série, comme l'*éosine*, empêchent la culture à la concentration de 1 p. 100.

Une partie de ces résultats, plutôt négatifs au sens chimiothérapeutique, peut être utilisée, croyons-nous, pour l'isolement des bacilles tuberculeux des crachats et des produits tuberculeux contaminés par des bactéries pyogènes.

Les corps chimiques à action inhibitrice prononcée sont rangés par ordre descendant dans les deux tableaux suivants.

Premier groupe.	TAUX (p. 100)
Cyanure d'or et de potassium	0,0006
Oxycyanure de mercure	0,002
Arsenic colloïdal (approximativement)	0,002-0,01
Thymol	0,004
Charbon colloïdal (approximativement).	0,006-0,03
Thiarsol	0,008
Sulfate de cuivre	0,01
Acide arsénieux	0,02
Enésol	0,03
Bichlorure de mercure	0,04
Bi-iodure de mercure	0,06
Cusylol	0,08
Nargol	0,08
Menthol	0,1
Bétol	0,1
Sulfidal (soufre colloïdal, produit impur)	0,1
Phénol	0,2

	TAUX (p. 100)
Acide lactique	0,2
Acide salicylique	0,2
Iode	0,3
Gaïacol	0,3
Eucalyptol	0,4
Amphotropine	0,4
Helmitol	0,4
Salicylate de soude	0,4
Aspirine	0,5
Salicylate de soude et de caféine	0,4
Chlorhydrate de quinine	0,4
Gaïasanol	0,6
Borovertine	0,6
Fibrollysine	0,6
Urotropine	0,8
Camphre	0,8
Résorcine	0,8
Vératrine	0,8
Benzoate de soude et de caféine	1

Second groupe.

	TAUX (p. 100)
Thioflavine	0,0004
Bleu de méthylène	0,002
Cristal violet	0,004
Rodamine	0,004
Safranine	0,004
Chrysoïdine	0,006
Violet de gentian	0,01
Crésyl violet	0,01
Aurantie	0,02
Jaune d'aniline (Anilingelb)	0,02
Vésuvine	0,02
Bleu marin	0,02
Bleu de Victoria	0,02
Bleu de Nil	0,02
Thionine	0,02
Schwarzbraun	0,02
Vert de méthylène	0,04
Jaune Victoria (Victoriagelb)	0,06
Auramine O. S.	0,06
Méthylaurine	0,1

Ces tableaux sont instructifs à plusieurs points de vue. Il en ressort tout d'abord que tous les médicaments employés dans le traitement de la tuberculose ont une valeur microbicide très faible.

Ce sont les colorants qui possèdent l'action empêchante la

plus manifeste. Or, à l'exception du bleu de méthylène, vanté par Rénon dans la tuberculose intestinale et par Strauss et von Linden dans la tuberculose pulmonaire, aucun des autres colorants n'a été essayé comme médicament antituberculeux. La substance inhibitrice la plus active, la *thioflavine*, n'a pas été employée. Elle devrait être encore l'objet de recherches toxicologiques et physiologiques. Le cyanure d'or et de potassium a été assez souvent utilisé, mais sans résultats favorables. Le cuivre combiné avec la lécithine, très vanté par Strauss et M^{me} von Linden, et aussi par quelques cliniciens, n'a pas donné de résultats satisfaisants. Damas injectait aux tuberculeux fébricitants le cuivre colloïdal dans les veines. Or, cette substance, que nous avons trouvée dépourvue de toute action empêchante, devrait, selon Damas, abaisser et enrayer complètement la fièvre.

Après les colorants, ce sont le cyanure de mercure, l'arsenic colloïdal, le thymol et le charbon colloïdal qui possèdent l'action inhibitrice la plus prononcée. Sauf le thymol, aucune des autres substances n'a été employée dans la thérapeutique de la tuberculose.

L'iode, qui n'est que faiblement bactéricide (0,3 p. 100), a été introduit récemment dans l'arsenal antituberculeux, plutôt à cause de ses fonctions lymphocytogènes et lipolytiques.

Le camphre qui, dans nos tableaux, occupe une des dernières places (le taux est de 0,08 p. 100) est recommandé par Wehrauch à cause de son action antithermique, qui est déniée par Schroeder.

On peut faire à nos calculs l'objection qu'ils sont trop abstraits, car on ne peut pas comparer l'organisme d'un malade à un ballon contenant 60 litres de bouillon. L'objection est évidemment très juste, car la concentration d'une substance, introduite dans l'organisme, change aussitôt grâce à l'affinité et à l'électivité des tissus.

L'action bactéricide d'un corps donné peut être augmentée quelquefois par l'action synergétique du milieu humoral, ou — ce qui arrive plus souvent — le médicament peut être absorbé en partie par les leucocytes et les cellules endothéliales, retenu par le foie, éliminé par les reins. Comme nous ne connaissons pas la valeur exacte de tous ces facteurs qui entrent en jeu, nous

sommes forcés de rester sur le terrain purement mathématique, sans y introduire de facteurs physiologiques.

Une autre objection peut paraître également fondée, c'est que nous avons choisi pour nos recherches un bacille tuberculeux avirulent. D'où vient donc la certitude que nos résultats sont valables avec des bacilles pathogènes ?

Les motifs de ce choix sont donnés au commencement de ce travail.

Quant aux données quantitatives obtenues, nous ne les croyons pas également applicables à tous les bacilles tuberculeux.

Au contraire, s'il nous était donné d'expérimenter avec plusieurs races de bacilles adaptés parfaitement aux milieux artificiels, poussant vigoureusement, le taux d'inhibition pour un corps donné varierait sûrement d'une race à l'autre, mais l'ordre des substances empêchantes resterait le même.

Le phénomène de l'inhibition a pour cause deux facteurs : la *vitalité des bacilles*, qui peut être différente chez les divers échantillons de la même famille, et l'*action biochimique* d'une substance donnée sur la cellule bactérienne, qui doit être fixe pour toutes les races d'une même famille, parce que basée sur l'identité des protéines bactériennes.

Nous croyons donc que nos chiffres, *mutatis mutandis*, pourraient s'appliquer aux bacilles tuberculeux virulents.

ERRATA

Mémoire de M. SANARELLI : Sur la pathogénie du charbon dit « interne » ou « spontané », mars 1925, page 251, ligne dernière : au lieu de *publiés*, lire *oubliés*.

Mémoire Winogradsky, avril 1925 :

Page 308, 10^e ligne, *au lieu de* : hétérotropes, *lire* : hétérotrophes.

— 11^e ligne, *au lieu de* : autotropes, *lire* : autotrophes.

Page 317, 3^e ligne, *au lieu de* : ces, *lire* les.

— 5^e ligne, *au lieu de* : insuffisamment, *lire* : suffisamment.

Page 337, 8^e ligne d'en bas, *au lieu de* : d'entre elles, *lire* : d'entre elles, à un grossissement de 1.800 diam.

Page 338, 11^e ligne, *au lieu de* : fotogr. n^{os} 5 et 8, *lire* : fotogr. n^o 21.

— 10^e ligne d'en bas, *au lieu de* : 6, 14, 16, 17, 19, *lire* : 1, 3, 5, 7, 10, 11, 16, 19.

Page 344, 5^e ligne d'en bas, *au lieu de* : montre, *lire* : fait prévoir.

Page 348, 9^e ligne d'en bas, *au lieu de* : 1,10 B^a, *lire* : 1,10 ou B^a 13.

Page 351, sous la figure, *au lieu de* : Fig. 22, *lire* : Fig. 22, grandeur naturelle.

Page 353, sous la figure, *au lieu de* : Fig. 23, *lire* : Fig. 23, gros. 300.

Le Gérant : G. MASSON.